

Grado de Nutrición Humana y Dietética

Trabajo Fin de Grado

Una búsqueda de alteraciones
metabólicas que acompañen a las
hiperhomocisteinemias causadas por
errores genéticos del metabolismo de
la metionina. Una revisión bibliográfica.

Autor

Néstor David Suero Bolea

Tutor

Alfonso Joaquín Sarria Guardia

(Bioquímica, Biología Molecular y Celular)

12/09/2021

RESUMEN

En 1969 McCully hipotetizó que la hiperhomocisteinemia (H-Hcy) está asociada al desarrollo de enfermedades cardiovasculares tras observar el desarrollo temprano de arteriosclerosis en pacientes con deficiencias de Cbl-C y cistationina β -sintasa, que afectan al metabolismo de la metionina y que -como única anomalía bioquímica común- compartían elevados niveles sanguíneos de homocisteína (Hcy). Esta hipótesis se consolidó cuando otros investigadores descubrieron que defectos en la enzima Metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR), implicada también en el metabolismo de la metionina, cursaba igualmente con H-Hcy e importantes daños vasculares.

Consecuentemente, el tratamiento de estas enfermedades se ha dirigido a controlar y reducir los niveles de Hcy, para limitar las patologías asociadas.

En esta revisión, se ha recopilado información de las concentraciones plasmáticas de metabolitos relacionados con el metabolismo de la Metionina de 234 pacientes con deficiencia de CBS, 47 con defectos de cbl, 203 con deficiencia de MTHFR, 50 con defectos de remetilación y 87 con presentaciones clínicas asociadas a deficiencia de las vitaminas B₁₂ y B₉, obtenidos de los datos presentes en 9 publicaciones. Los datos obtenidos muestran que todas las situaciones anteriores se presentan con H-Hcy, pero también parecen hacerlo con hipocisteinemia (h-Cys).

Aunque sabemos que la observación anterior es incompleta, hemos contemplado la posibilidad de que algunas patologías descritas en las hiperhomocisteinemias pudiesen tener su origen, no en las elevaciones de Hcy, sino en una escasez de Cys.

Utilizando ese punto de partida, hemos identificado dianas potenciales de una escasez de Cys, y considerado como una disfuncionalidad de estas pudiera dar origen a presentaciones clínicas (PCs) compartidas en las homocistinurias. Sorprendentemente, algunas de las dianas moleculares aquí identificadas podrían explicar razonablemente relevantes presentaciones clínicas de estas enfermedades.

Finalmente, se sugieren estrategias nutricionales considerando la posibilidad de que algunas patologías de las homocistinurias pudiesen tener su origen en una escasez de Cys.

ÍNDICE

1. LISTADO DE ABREVIATURAS.....	3
2. INTRODUCCIÓN	4
2.1. Metabolismo de la metionina: Rutas de producción y eliminación de homocisteína.	6
2.2. Regulación alostérica del metabolismo de la metionina.	8
2.3. Influencia de la dieta y el recambio proteico en los niveles de homocisteína.....	9
2.4. Causas más frecuentes de las hiperhomocisteinurias.....	9
2.5. Presentación clínica de las homocistinurias.	11
2.6. Mecanismos patogénicos postulados para la homocisteína.	15
2.7. Tratamiento de las hiperhomocisteinurias.....	17
3. OBJETIVOS.....	18
4. METODOLOGÍA	19
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
5.1. Hipocisteinemia: ¿Una alteración común en las Homocistinurias?	20
5.2. Dianas moleculares potencialmente afectadas por una baja disponibilidad de Cys.	24
5.2.1. Metabolitos derivados de Cys.	24
5.2.2. Proteínas Ricas en Cisteína (PRCs).	29
5.2.2.1. Proteínas humanas analizadas y criterio arbitrario utilizado para considerar a una proteína como “rica en cisteína”: PRC.	29
5.2.2.2. Búsqueda de PRCs potencialmente asociadas a manifestaciones clínicas en las homocistinurias.	31
5.2.2.3. Familias proteicas con elevada representación entre las PRCs.	32
5.2.2.4. PRCs asociadas a presentaciones clínicas también presentes en las homocistinurias.	36
6. ESTRATEGIAS NUTRICIONALES POTENCIALES EN EL TRATAMIENTO DE LAS HOMOCISTINURIAS.....	44
7. CONCLUSIONES	46
8. BIBLIOGRAFIA.....	47

1. LISTADO DE ABREVIATURAS

5-metilTHF: 5-metiltetrahydrofolato

ACP: Proteína portadora de grupos acilo

APC: Proteína C activada

APS: Adenosina-5'-fosfosulfato

BHMT: Betaína-homocisteína metiltransferasa

CBS: Cistationina β -sintasa

CE: Células endoteliales

CGL: Cistationina γ -liasa

CSAD: Cisteína-sulfinato descarboxilasa

Cysta: Cistationina

DR: Defectos de remetilación

ECV: Enfermedades cardiovasculares

GSH: Glutation

H₂S: Ácido sulfhídrico

HCU: Homocistinuria clásica

Hcy: Homocisteína

h-Cys: Hipocisteinemia

Hcy-TL: Homocisteína-tiolactona

H-Hcy: Hiperhomocisteinemia

Hyp: Hipotaurina

KRTAPs: Proteínas asociadas a queratinas

LCE: Precursores del estrato corneo

MAT: Metionina adenosiltransferasa

Met: Metionina

Metil-cbl: Metilcobalamina

MS: Metionina sintasa

MSR: Metionina sintasa reductasa

MT: Metalotioneinas

MTHFR: Metilentetrahydrofolato reductasa

MTR: 5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase

MTs: Metiltransferasas

PAPS: 3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato

PLP: Piridoxal fosfato

PRC: Proteína Rica en Cys

ProC: Proteína C

ProS: Proteína S

RE: Retículo Endoplasmático

ROS: Especies Reactivas del Oxígeno

RP: Recambio proteico

SAH: s-adenosil homocisteína

SAHH: s-adenosil homocisteína-hidrolasa

SAM: s-adenosilmetionina

SNC: Sistema Nervioso Central

SOD: Superóxido dismutasa

Tau: Taurina

TFPI1: Inhibidor proteico del factor tisular
1

TNFs: Factores de necrosis tumoral

TPA: Activador de plasminógeno tisular

vWF: Factor de von Willebrand

2. INTRODUCCIÓN

La homocistinuria se detectó por primera vez en 1962 con el descubrimiento de la excreción urinaria de este aminoácido azufrado, homocisteína, en varios sujetos con retraso mental y susceptibilidad a trombosis arterial y venosa (Carson & Neill, 1962).

En 1968 Kilmer McCully desveló la posible importancia de la hiperhomocisteinemia en la patogénesis de la arterioesclerosis tras el estudio postmortem de las patologías vasculares encontradas en 2 niños con homocistinurias originadas por 2 anomalías enzimáticas distintas del metabolismo de la homocisteína (McCully, 1969). En el primero de los casos, la homocistinuria estaba causada por una deficiencia de cistationina β -sintasa (CBS), una enzima dependiente de piridoxal fosfato (PLP), que ya se había asociado a anomalías vasculares y trombosis frecuentes (Gibson et al., 1964). En el segundo caso la homocistinuria estaba causada por un defecto en el gen 5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase (MTR) cuyo producto participa en la regeneración de metionina (Met) a partir de homocisteína (Hcy) y que utiliza la cobalamina (Vit. B12) como cofactor. Se observó en el paciente que este déficit estaba asociado a una rápida progresión de arterioesclerosis.

Así, puesto que dos anomalías enzimáticas distintas concurrían en elevaciones de la homocisteína en plasma y también en lesiones vasculares, McCully sugirió que la homocisteína –o un derivado de esta- debe ser la causa común que produce las lesiones vasculares (McCully, 1969). Posteriormente se descubrió que una tercera anomalía enzimática que conduce a homocistinuria -la deficiencia de metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR), una enzima dependiente de folato- también se encontraba asociada a lesiones arteriales y trombosis (Kanwar, 1976).

Estos hallazgos fundamentan la hipótesis de que la hiperhomocisteinemia podría ser un agente etiológico en la patogénesis de la arterioesclerosis y –su elevación en sangre- un factor de riesgo cardiovascular.

Esta hipótesis recibió apoyo adicional de experimentos en animales en los que se mostró que, al administrar metionina, homocisteína tiolactona y/o ácido homocisteico mediante dieta sintética o por vía parenteral se producían placas arterioescleróticas tanto en la aorta como en sus ramas arteriales. Este efecto era mucho mayor al ser administrados por vía parenteral, causando la muerte de varios animales debido a trombosis y embolismos (McCully & Wilson, 1975).

De hecho, muchos estudios clínicos y epidemiológicos realizados en las últimas décadas en humanos parecían apoyar que la hiperhomocisteinemia era un factor de riesgo independiente para el desarrollo de la aterosclerosis en población general (McCully, 2005).

Sin embargo, estudios posteriores no han logrado sustentar el papel causal de la Hcy en la mayor parte de las enfermedades cardiovasculares. Por ejemplo, en una reciente revisión que abarca más de 71.000 participantes, no se encontraron diferencias significativas en intervenciones reductoras de homocisteína mediante suplementos de vitaminas B6, B9 o B12 -administrados solos o en combinación- comparado con placebo en la reducción de infartos de miocardio, muerte por cualquier causa o serios eventos. Únicamente se apreció un ligero beneficio de las intervenciones para reducir la Hcy en cuanto a la reducción de accidentes cerebrovasculares (Martí-Carvajal et al., 2017; Chrysant, S., & Chrysant, G. (2018)

2.1. Metabolismo de la metionina: Rutas de producción y eliminación de homocisteína.

La Hcy es un aminoácido azufrado no-proteinogénico, derivado de la Met, en el que confluyen las 3 rutas metabólicas implicadas en el metabolismo de la metionina, a saber: Transmetilación, remetilación y transulfuración (Figura 1).

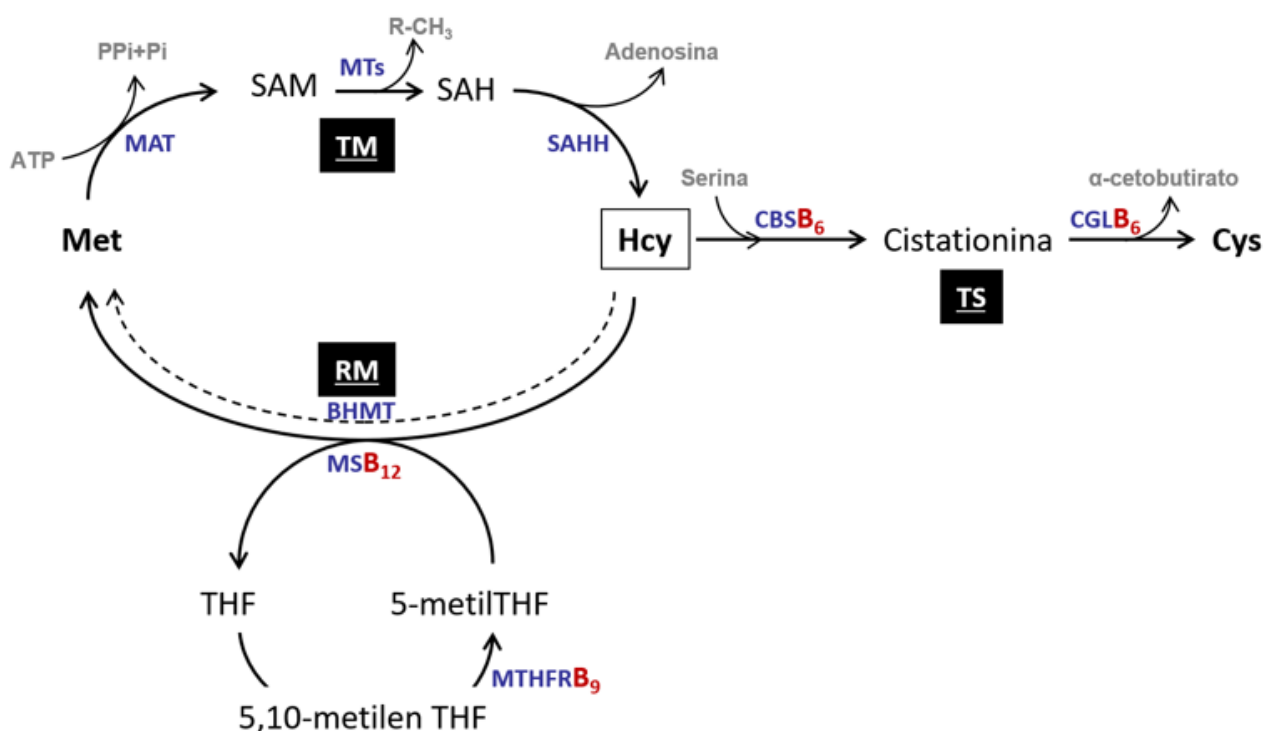


Figura 1. Metabolismo de metionina: Rutas de transmetilación, remetilación y transulfuración. TM Transmetilación, TS Transulfuración, RM Remetilación, MAT Metionina adenosiltransferasa, SAM S-adenosilmetionina, MTs Metiltransferasas, SAH S-adenosilhomocisteína, SAHH S-adenosilhomocisteína hidrolasa CBS Cistationina β sintetasa, CGL Cistationina γ-liasa, BHMT betaína-homocisteína metiltransferasa, MS Metionina Sintasa, 5-metilTHF 5-metiltetrahidrofolato THF Tetrahidrofolato, MTHFR Metilentetrahidrofolato reductasa, 5,10-Metilen THF 5,10-Metilentetrahidrofolato.

Transmetilación (Fig.1 TM): La Hcy es producida en la ruta de transmetilación de metionina mediante la desmetilación de este aminoácido esencial. Durante la transmetilación, la metionina adenosiltransferasa (MAT) cataliza la biosíntesis de S-adenosilmetionina (SAM) a partir de metionina y ATP. El producto de esta reacción (SAM) es un donante de grupos metilo utilizado ampliamente por enzimas del organismo denominadas metiltransferasas (MTs). Al donar su grupo metilo SAM se convierte en S-adenosil homocisteína (SAH), que es un potente inhibidor de la mayoría de las metiltransferasas. Por último, la enzima S-adenosil homocisteína-hidrolasa (SAHH) hidroliza SAH generando adenosina y homocisteína.

Remetilación (Fig.1 RM): La eliminación de Hcy puede producirse mediante su remetilación generando metionina, una reacción catalizada por la metionina sintasa (MS), presente ampliamente en tejidos animales y encargada de mantener los valores basales de Hcy (Stipanuk, 2020). Este proceso tiene lugar a través de una reacción de transferencia del grupo metilo del 5-metiltetrahidrofolato (5-metilTHF) a la homocisteína a través de la metilcobalamina (metil-cbl) como un portador de metilo intermedio, lo cual requiere cobalamina como cofactor, y además conecta el ciclo del folato con el metabolismo de la homocisteína (Stipanuk, 2020).

El 5-metilTHF procede del pool de folato a través de la acción de la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR), enzima dependiente de vitamina B9. De este modo el grupo metilo del 5-metilTHF es transferido a la cobalamina –dando metilcobalamina- y desde ella a la homocisteína generando metionina (Stipanuk, 2020). Existe también un sistema menor de remetilación de homocisteína, denominada betaína-homocisteína metiltransferasa (BHMT) que contribuye a la regulación de los niveles de homocisteína.

Transulfuración (Fig.1 TS): Es una vía alternativa que elimina de forma irreversible la homocisteína convirtiéndola en cisteína –un aminoácido no esencial- a través de reacciones dependientes de Vitamina B6; la primera de estas reacciones es catalizada por la CBS y la segunda por cistationina γ -liasa (CGL).

La CBS cataliza la condensación de Hcy y serina generando cistationina mientras que CGL cataliza la hidrólisis de este último metabolito produciendo cisteína y α -cetobutirato. La CBS se expresa en el hígado, riñones, músculo, cerebro y ovario, y también durante la embriogénesis temprana en los sistemas neurales y cardíacos (Blom, & Smulders, 2010).

2.2. Regulación alostérica del metabolismo de la metionina.

Las alternativas en la eliminación de Hcy, utilizando bien la vía de remetilación, o bien la de transulfuración (Fig.2) está regulada por los niveles de SAM -producidos en la ruta de transmetilación- cuya acumulación actúa como un inhibidor alostérico de la MTHFR y como un activador de la CBS (Blom & Smulders, 2010). Esta inhibición de MTHFR garantiza a su vez que no se produzca SAM mientras un exceso de Hcy es liberado del ciclo mediante la transulfuración. En contraste, el aumento de las concentraciones locales de SAH permite la desinhibición de MTHFR junto con la inhibición de las MTs dependientes de SAM (Froese et al., 2019)

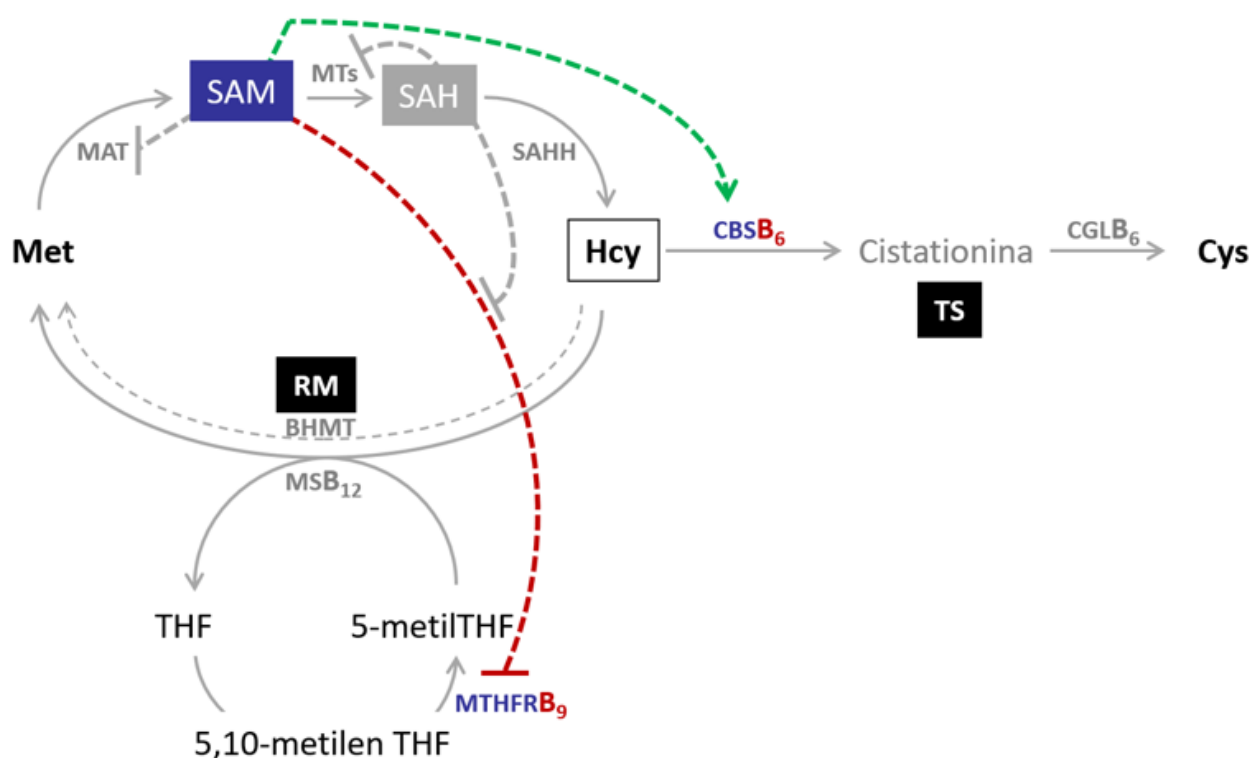


Figura 2. Regulación alostérica de las rutas de remetilación y transulfuración. TM Transmetilación, TS Transulfuración, RM Remetilación, MAT Metionina adenosiltransferasa, SAM S-adenosilmetionina, MTs Metiltransferasas, SAH S-adenosilhomocisteína, SAHH S-adenosilhomocisteína hidrolasa CBS Cistationina β sintetasa, CGL Cistationina γ -liasa, BHMT betaína-homocisteína metiltransferasa, MS Metionina Sintasa, 5-metilTHF 5-metiltetrahidrofolato THF Tetrahidrofolato, MTHFR Metilentetrahidrofolato reductasa, 5'10-Metilen THF 5,10-Metilentetrahidrofolato.

2.3. Influencia de la dieta y el recambio proteico en los niveles de homocisteína.

Tal como se muestra en la Figura 3, los niveles de Hcy deberían verse influenciados por la contribución de tres factores:

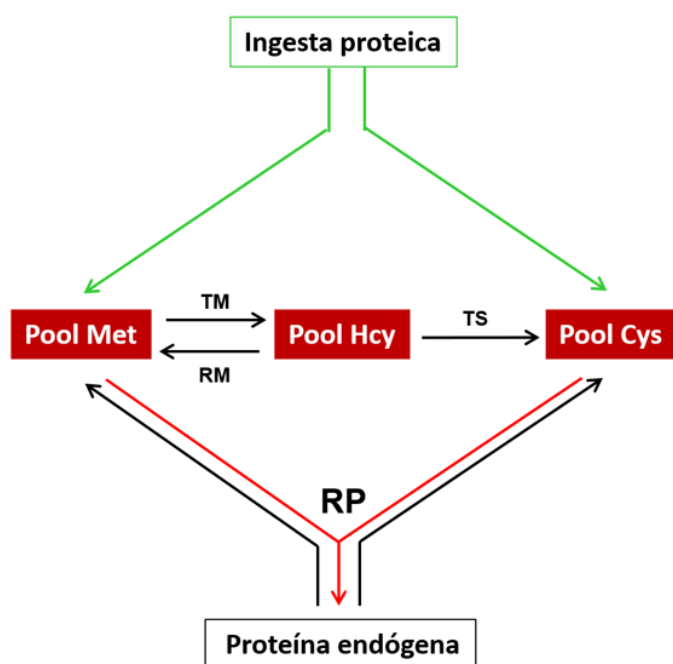


Figura 3. Relación entre la ingesta proteica, el recambio proteico (RP) y los niveles de Met, Hcy y Cys. TM transmetilación, **RM** remetilación, **TS** transulfuración. |

-La ingesta diaria de metionina, de la que la Hcy deriva por transmetilación.

-La liberación de metionina de proteínas endógenas que dependerá del recambio proteico.

-La actividad de las vías metabólicas -remetilación y transulfuración- que contribuyen a su eliminación.

Además, consecuentemente, las vitaminas B6, B9 y B12 que actúan como coenzimas de enzimas que participan en las

rutas de eliminación de Hcy también son importantes determinantes de los niveles de Hcy presentes en el organismo.

2.4. Causas más frecuentes de las hiperhomocisteinemias humanas.

La H-Hcy es un estado caracterizado por elevadas concentraciones de Hcy en sangre. Puede ser debida a deficiencias o polimorfismos genéticos en los sistemas enzimáticos o enzimas que participan en el metabolismo de la homocisteína (Kim et al., 2018), pero también puede ser causada por circunstancias nutricionales o trastornos genéticos que afecten la absorción, transporte o metabolismo intracelular tanto de vitamina B12 como de folato (Al Mutairi, 2020)

Las causas más frecuentes asociadas con el desarrollo de H-Hcy en humanos se deben a defectos que afectan a CBS, MTHFR y a defectos de remetilación asociados a la reacción catalizada por MS:

- 1- **Cistationina β sintetasa (CBS):** Es la enzima que cataliza la primera reacción esencial en la degradación de la homocisteína por la ruta de transulfuración. Mutaciones severas en ambos alelos de CBS en un individuo produce H-Hcy severa (Al Mutairi, 2020) y hasta la fecha se han identificado por lo menos 164 mutaciones del gen que codifica la enzima (CBS database-all mutations, 2021). La presentación clínica habitual de esta enfermedad -conocida como homocistinuria clásica (HCU)- suele presentarse tempranamente, por lo que afecta a niños con homocistinuria y es la causa más frecuente de hiperhomocisteinemia en humanos.
- 2- **Metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR):** La deficiencia de esta enzima origina homocistinuria en humanos, aunque menos severa que la debida a la CBS (Al Mutairi, 2020). Se han descrito por lo menos 84 mutaciones en este gen (Massadeh et al., 2019). También se ha descrito un polimorfismo (677C>T) de la enzima -con una elevada frecuencia entre la población mundial- que genera una variante con sensibilidad térmica (Frosst et al., 1995) y asociado al desarrollo de H-Hcy.
- 3- **Defectos de remetilación asociados a la reacción catalizada por Metionina sintasa (MS):** Como se ha descrito con anterioridad, MS cataliza la transferencia de un grupo metilo desde la metil-cbl a la Hcy para convertirla en Met. Esta reacción puede verse comprometida por diversos defectos en el metabolismo de la cobalamina que contribuyen a la formación de metil-cbl –el sustrato utilizado por MS- entre los que se encuentran los siguientes (Hoss et al., 2019):
 - cblC**: defecto en la generación de cobalamina II
 - cblD**: defecto en la generación de cobalamina II
 - cblE**: Mutaciones en la Metionina sintasa reductasa (MSR). Produce Metilcobalamina a partir de cobalamina II utilizando el grupo metilo del 5-metilTHF (De Biase et al., 2020).
 - cblF**: defecto en la generación de cobalamina II
 - cblG**: Metionina Sintasa (MS). Utiliza la Metilcobalamina producida por MSR para transferirlo a la Hcy y generar Met.
 - cblJ**: defecto en la generación de cobalamina II
 - cblX**: defecto en la generación de cobalamina II

De entre todos ellos, los defectos en cblC son los que con más frecuencia dan lugar al desarrollo de H-Hcy en humanos y se encuentran asociados a la presencia de acidosis metilmalónica (Hoss et al., 2019).

2.5. Presentación clínica de las homocistinurias.

Las presentaciones clínicas publicadas de pacientes que padecen trastornos de remetilación no revelan signos y síntomas distintivos, sino que destacan sus afecciones a múltiples sistemas presentándose habitualmente de forma multifacética. Sin embargo, es posible identificar ciertos patrones de presentaciones clínicas.

De forma habitual, tanto el sistema nervioso central y periférico como la medula ósea se ven afectados concurriendo en muchos casos los siguientes síntomas: Retraso en el desarrollo, deterioro cognitivo, problemas de alimentación, síntomas neurológicos que incluyen convulsiones, trastornos del movimiento, tono muscular anormal, deficiencia visual y neuropatía. También anomalías hematológicas y manifestaciones renales en muchos de los pacientes.

Las presentaciones clínicas pueden variar considerablemente; Encefalopatía severa aguda, anemia macrocítica, síndrome hemolítico urémico atípico, signos cardiopulmonares, degeneración de la medula ósea o síntomas psiquiátricos, aislados o en combinación con otros síntomas (Huemer et al., 2017).

Presentación clínica en CBS:

Los pacientes con deficiencia de CBS varían notablemente en sus síntomas, edad de aparición y velocidad de progresión de los signos clínicos. En los primeros informes (Carson et al., 1965; Schimke et al., 1965) se describió el extremo más severo del espectro presentando enfermedades multisistémicas. Fue en estos primeros informes, cuando todavía se desconocía prácticamente esta deficiencia, donde se pudo apreciar la evolución de la enfermedad hasta los extremos más severos. En los años posteriores, con la evolución de los diagnósticos y tratamientos se ha conseguido controlar mejor la deficiencia en CBS y reducir la magnitud de las presentaciones clínicas. Un estudio sugiere incluso que muchos pacientes pueden incluso permanecer asintomáticos durante toda la vida al ser extremadamente sensibles a la piridoxina y alcanzar niveles normales de Hcy con pequeñas dosis a través de la dieta (Skovby et al., 2010).

Las características clínicas que se han descrito de estos pacientes son (Voskoboeva et al., 2018; Sacharow et al., 1993; Hoss et al., 2019; Morris et al., 2017):

- Subluxación bilateral del cristalino, que podría preceder en una miopía progresiva.
- En el sistema esquelético; Comparten un aspecto similar (marfanoide) a pacientes del síndrome de Marfan, con altura excesiva, extremidades largas, aracnodactilia, escoliosis, pectus excavatum, osteoporosis.
- En el sistema circulatorio; Prolapso de la válvula mitral, arritmias, hipertensión arterial y tromboembolismo -causante mayor de morbilidad y muerte temprana en estos pacientes (Yap, 2003).
- Con respecto al sistema nervioso central; Retraso mental, problemas psiquiátricos y convulsiones.

Cabe destacar que estos síntomas son mucho más frecuentes en los pacientes no-respondedores a la piridoxina (Vit. B6). También que, cuando la enfermedad se manifiesta tempranamente, los niños tienen más probabilidades de presentar retraso en el desarrollo y ectopia lentis. Los adultos tienen más probabilidades de ser diagnosticados después de eventos vasculares. Pero, la mayoría de las manifestaciones, sin embargo, puede ocurrir a casi cualquier edad.

Presentación clínica en pacientes con cbl (Huemer & Baumgartner, 2019):

La edad típica de aparición es en los primeros meses de vida y los síntomas principales de inicio temprano de la enfermedad son:

- Dificultades para la alimentación y retraso del crecimiento, hipotonía muscular, deterioro del desarrollo, crisis metabólica con encefalopatía aguda, convulsiones y acidosis.
- Hidrocefalia, síndrome hemolítico urémico e hipertensión pulmonar que podría presentar síntomas de microangiopatías. Puede desarrollarse glomerulopatía y fallo renal crónico debido al síndrome hemolítico urémico o de forma independiente.
- Anemia megaloblástica, hipersegmentación de neutrófilos, leucopenia, trombocitopenia o pancitopenia.
- Polineuropatía predominantemente en las extremidades inferiores con parestesia, entumecimiento y problemas de marcha. Además, las pérdidas de peso son

frecuentes, a menudo acompañadas de síntomas psiquiátricos agudos o crónicos (p. Ej., Depresión, psicosis).

- Se han descrito problemas de visión y neuropatías ópticas. La degeneración de la medula espinal debido a la desmielinización también se ha descrito como un síntoma característico, pero no siempre se encuentra presente.
- También se han descrito casos de escoliosis, aracnodactilia en casos de cblC y de características marfanoides en casos de cblC y cblD (Heil et al., 2007; Coelho et al., 2008)
- Otras presentaciones características son la presencia de infartos y trombosis.

En adultos con deficiencia de Cbl se muestran las presentaciones clásicas, en su mayoría, sólo después de una privación prolongada de vitaminas.

Presentación clínica en pacientes con MTHFR (Huemer et al., 2017; Huemer & Baumgartner, 2019; Hoss et al., 2019; Aljassim et al., 2020):

La deficiencia de MTHFR se presenta principalmente a una edad temprana, pero puede presentarse potencialmente a cualquier edad con una alta prevalencia de deterioro cognitivo. Neurológicamente, su presentación clínica es bastante similar a los trastornos relacionados con cbl.

Neonatos y niños pequeños a menudo manifiestan dificultades para alimentarse, disminución de la conciencia, hidrocefalia e hipotonía muscular. La apnea es también una complicación frecuente, así como las convulsiones junto a deterioro cognitivo mostrando a menudo microcefalia adquirida.

Conforme aumenta la edad, la neuropatía periférica, anomalías en la marcha, trastornos psiquiátricos o conductuales y trombosis pueden aparecer.

Recientemente se ha reportado un paciente MTHFR deficiente que presenta subluxación bilateral del cristalino (Couser et al., 2017), nunca antes descrito en la literatura científica. También se ha reportado, un caso de escoliosis severa con este déficit (Munoz et al., 2015).

	Presentación clínica	Deficiencia CBS	Defectos en cbl	Deficiencia en MTHFR
Sistema Nervioso	Retraso mental	Sí	Sí	Sí
	Convulsiones	Sí	Sí	Sí
	Problemas psiquiátricos	Sí	Sí	Sí
Sistema cardiovascular	Tromboembolismo	Sí	Sí	Sí
Sistema esquelético	Apariencia marfanoide	Sí	Descrito en cblC y cblD	-
	Escoliosis	Sí	Descrito en cblC	Descrito en MTHFR
	Aracnodactilia	Sí	Descrito en cblC	-
Afectación ocular	Dislocación bilateral del cristalino	Sí	Agudeza visual disminuida	Descrita subluxación bilateral del cristalino
Afectación hepática	Esteatosis	Frecuente en modelo de ratón y descrita en humanos (Gaul & Schaffner, 1971; Mack et al., 2001).	Descrita en cblC y cblF (Huemer et al., 2017)	-
Afectación renal	Síndrome hemolítico urémico	Sí	Sí	-

Tabla 1. Presentaciones clínicas compartidas en algunas homocistinurias. Modificada a partir de datos seleccionados de Hoss et al., 2019; OMIM #277400 cblC, OMIM #236200 CBS, Huemer et al., 2017; Munoz et al., 2015; Huemer & Baumgartner, 2019; Couser et al., 2017; Heil et al., 2007; Coelho et al., 2008; Voskoboeva et al., 2018; Sacharow et al., 1993; Hoss et al., 2019; Morris et al., 2017.

2.6. Mecanismos patogénicos postulados para la homocisteína.

Aunque la H-Hcy se ha asociado con diversas alteraciones y lesiones en diferentes sistemas; en salud mental -deterioro cognitivo, demencia, depresión, enfermedades de Alzheimer y Parkinson (Williams & Schalinske, 2010)-, en la función renal (Skovierova et al., 2016) o en el sistema neuronal (Ganguly & Alam, 2015), el sistema vascular podría ser uno de los más afectados por la H-Hcy.

La hiperhomocisteinemia muestra una relación cercana con muchas enfermedades vasculares, incluso aunque los mecanismos subyacentes no se lleguen a comprender del todo. La remodelación y alteración arquitectónica de la pared vascular -compuesta por células endoteliales (CE)- contribuye sustancialmente a la patogénesis de la lesión vascular. Las CE regulan el tono vascular y mantienen el equilibrio inflamatorio y su disfunción puede derivar en importantes cambios patológicos y enfermedades vasculares (Fu et al., 2018).

La mayoría de las lesiones vasculares están asociadas a la inflamación vascular a través de la interacción entre las células residentes vasculares y las células inflamatorias activadas. Los leucocitos circulantes, incluidos los monocitos/macrófagos, linfocitos y neutrófilos, están implicados en la patogenia de las lesiones vasculares.

Numerosos estudios "in vitro" e "in vivo" en modelos animales utilizando Hcy han demostrado que la homocisteína induce efectos patogénicos tanto en las células vasculares como en los leucocitos circulantes.

La Hcy podría ejercer sus efectos patógenos sobre la lesión vascular a través de diversas vías:

- **Estrés oxidativo:** Tendría su origen en la producción de ROS (Especies Reactivas del Oxígeno), y se piensa que es el principal mecanismo que media la lesión vascular inducida por Hcy (Tyagi et al., 2005). La producción de ROS se debería a que la homocisteína inhibe la actividad de los antioxidantes, lo que interrumpe la SOD (Superóxido dismutasa), activa las NADPH oxidasas y posteriormente produce el radical superóxido; además los ROS generados activan la expresión de genes proinflamatorios e inflamación vascular (Skovierova et al., 2016). También se ha observado que la homocisteína-tiolactona (Hcy-TL) conduce al estrés oxidativo y la inflamación endotelial (Wu et al., 2015).

- Otra diana de la H-Hcy podrían ser las metalotioneínas. Se ha descrito que la Hcy al interaccionar con estas proteínas –destruyendo los puentes disulfuro entre las numerosas cisteínas que contienen- alteran su estructura y función liberando los iones metálicos que almacenan, lo que promueve un efecto pro-oxidante y favorece la acumulación de ROS en las CE, causando disfunción endotelial y contribuyendo al desarrollo y progresión de la aterotrombosis (Barbato et al., 2007).
- **Estrés RE (Retículo Endoplasmático):** Las proteínas recién sintetizadas en el RE, sufren modificaciones postraduccionales y deben plegarse correctamente para ser exportadas al aparato de Golgi, mientras que las proteínas mal plegadas se retienen en el RE para el replegamiento o la degradación. Cuando estas proteínas mal conformadas se acumulan en el RE, causan "Estrés RE" (Binet & Sapieha, 2015), involucrado en la patogénesis de las enfermedades vasculares. La homocisteína provoca estrés RE (Outinen et al., 1999; Hossain et al., 2003) y esta media la apoptosis y la muerte de las CE y acelera aún más el desarrollo de aterosclerosis en ratones (Hossain et al., 2003; Kim et al., 2007).
- **Modificación epigenética:** La homocisteína también podría ejercer sus efectos patógenos al alterar la metilación (Kamat et al., 2016). En la H-Hcy causada por deficiencia de MS o MTHFR se inhibe la transformación de Hcy a Met, y como consecuencia disminuye la producción de SAM, que sirve como donante metilo en la transmetilación a SAH. La acumulación de Hcy conduce también a la formación de SAH que retroinhibe aún más la transmetilación de SAM.
- **Homocisteinilación:** Se cree que la N-homocisteinilación de proteínas es el sello patológico de los trastornos cardiovasculares y neurodegenerativos, ya que la homocisteinilación induce alteraciones estructurales y funcionales en las proteínas, pero también afecta el estado redox dependiente de tioles (Jakubowski, 1999).

2.7. Tratamiento de las hiperhomocisteinemias humanas.

La deficiencia en CBS afecta la transulfuración de Hcy a Cistationina (Cysta) lo que provoca la acumulación de Hcy, Met y SAM, así como la disminución de Cysta. Estos defectos resultarán en una disminución de la producción de cisteína (Orendáč et al., 2003). Por otro lado, los defectos de remetilación -deficiencia de MTHFR y defectos de cbl- conducirán a la acumulación de Hcy y a una disminución de la producción de Met y SAM. La disminución de SAM debería conllevar una disminución del flujo de Hcy a través de la ruta de transulfuración por falta de estimulación de SAM sobre CBS.

Por tanto, en ambos casos –deficiencia de CBS o defectos de remetilación- el flujo a través de la ruta de transulfuración debería verse disminuido, conduciendo a elevaciones de Hcy y a una disminución en la producción de cisteína.

Los tratamientos para las distintas homocistinurias buscan -en la medida de lo posible- disminuir los niveles de Hcy ya sea:

- i) Mediante el suplemento de vitaminas que utilizan las enzimas defectuosas –con la finalidad de desbloquear su función-.
- ii) Mediante la limitación en la ingesta de metionina –para limitar la producción de Hcy-.
- iii) Mediante la suplementación de cisteína –para compensar un déficit potencial de este aminoácido-, o inducir la eliminación de Hcy a través de la ruta de transulfuración mediante el uso de betaína que al estimular la remetilación de Hcy -mediante BHMT- conduce a un aumento de SAM y, como consecuencia, estimula la actividad de CBS.

En el caso de la deficiencia en CBS, mientras algunos pacientes (respondedores a B6) son capaces de controlar sus niveles de Hcy con suplementos de piridoxina (B6), otros responden parcialmente a dicho tratamiento y un tercer grupo son completamente refractarios al suministro de B6. Para estos pacientes que no pueden controlar sus niveles de Hcy mediante suplementos de B6 se utiliza a menudo una dieta baja en proteínas –que limite la ingesta de metionina- y a menudo se recomienda el tratamiento con betaína como terapia adjunta. Por último, aunque en pacientes con deficiencia severa de CBS la suplementación con cisteína puede ser necesaria, no parece existir evidencia suficiente para concretar la dosis a recomendar (Morris et al., 2017)

En el caso de los defectos de cbl (Huemer et al., 2017), se aconseja el suministro de cobalamina y tomar en consideración el tratamiento con betaína para controlar los niveles de Hcy. Se desaconseja la restricción proteica para no limitar la disponibilidad de metionina – cuyos bajos niveles podrían contribuir a la patogénesis de la enfermedad- y se menciona que aunque algunos pacientes han sido suplementados con metionina, no existe constancia de que ninguno lo haya sido con cisteína.

Por último, en la deficiencia de MTHFR se recomienda el uso de betaína con el objetivo de mantener los niveles adecuados de metionina y se menciona la existencia de un par de trabajos que describen la mejoría en un pequeño número de pacientes que recibieron suplementación con metionina, aunque se desconoce la relevancia -para el tratamiento- de dichas observaciones (Huemer et al., 2017).

3. OBJETIVOS

Objetivo general.

Realizar una revisión bibliográfica de las homocistinurias humanas con el objetivo de evaluar si existen otras alteraciones metabólicas comunes –además de la H-Hcy- que concurren en todas ellas.

-En caso de hallarse:

- a) Intentar racionalizar -si se encontrasen medios adecuados- los efectos potenciales que dicha alteración pudiese tener como agente etiológico de ECV comunes descritas en las homocistinurias.
- b) Evaluar –a la luz de los resultados- estrategias nutricionales potenciales conducentes a restablecer los metabolitos alterados en estas enfermedades a sus niveles normales.

4. METODOLOGÍA

Para realizar la revisión bibliográfica se han utilizado los siguientes buscadores y bases de datos: WOS, Pubmed, AlcorZe, UniProtKB y OMIM.

La búsqueda bibliográfica se realizó en inglés y se utilizaron términos descriptivos de las enfermedades analizadas “MTHFR”, “CBS”, “cbl” en combinación con términos que describían el objetivo de la búsqueda particular “Pathogenic Mechanisms”, “Clinical Presentation”, “Homocysteine”, “Hyperhomocysteinaemia”, “Homocystinuria”, “Cysteine”, “Total Hcy”, “Total Cys”, “Low Cys”, “Plasma Hcy”, “Plasma Cys”, “Plasma homocysteine”, “Plasma cysteine” etc.

Las búsquedas bibliográficas han ido dirigidas: bien i) a recopilar la información general requerida para la exposición de este TFG, o ii) a la obtención y selección de artículos que reportaran niveles de metabolitos plasmáticos en pacientes de homocistinurias. En el último caso, se seleccionaron únicamente las publicaciones obtenidas que los reportaban, obteniéndose 9 artículos.

Análisis de proteínas humanas: La base de datos de proteínas humanas analizada en este TFG corresponde a UniProtKB (<https://www.uniprot.org/uniprot/>). Fue accedida y descargada de este servidor el 05/02/2021. La base de datos resultante contenía 20.386 entradas que fueron cribadas a continuación, eliminando todas las entradas cuya existencia no tuviese evidencia contrastada a nivel de proteína, con lo que quedaron 16.373 entradas para analizar.

Cálculo de valores (Promedios y SD): A continuación, se calcularon los % de Cys y Met de cada proteína y, seguidamente el promedio y desviación estándar del % de Cys y Met a partir de las 16.373 proteínas.

Para cisteína el % promedio de contenido de este Aa en las proteínas fue de 2'41 y su desviación estándar (SD) de 2'52. En el caso de la metionina, el contenido promedio en % de las proteínas fue de 2'26 –similar al de cisteína–, pero su desviación estándar, 1'05, fue menor.

SD sobre la media: Los datos de % Cys fueron “normalizados” para cada proteína con la función de Excel, lo que devuelve un valor que indica el nº de SD que el “% de Cys” de la proteína analizada está por encima del promedio.

Al efecto de analizar qué proteínas de la base de datos podrían considerarse ricas en cisteína (PRC), y su síntesis pudiese resultar potencialmente afectada por una limitada disponibilidad de cisteína en el organismo (hipótesis contemplada en este TFG), se estableció un límite de corte arbitrario conforme al cuál, las proteínas con un **SD sobre la media $\geq 2'0$** se han

considerado PRCs, lo que en términos de % Cys se corresponde con proteínas con contenido de Cys $\geq 7'453$ %.

Con dicho criterio, 364 proteínas de la base de datos -es decir, un 2'22%- se consideran PRCs.

Afectación relativa (AR): A continuación, se calculó el valor AR = SD sobre la media/2'0014 como estimación comparativa de una mayor o menor afectación –bajo una limitación de Cys- entre las PRCs (2'0014 es la “SD sobre la media” de la última proteína que supera el límite de corte arbitrario para ser considerada una PRC).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Hipocisteinemia: ¿Una alteración común en las Homocistinurias?

Al inicio de esta revisión se observó una situación paradójica entre dos revisiones recientes sobre homocistinurias (Kořich & Stabler, 2020; Hoss et al., 2019) que presentaban resultados discordantes respecto a los niveles de un metabolito en las diversas homocistinurias. Así, como se muestra en la Tabla 2 (resumen del Anexo 1), mientras ambos trabajos reportaban niveles elevados de Hcy en todas las homocistinurias, sólo uno de ellos indicaba además niveles reducidos de cisteína en plasma en las tres causas de homocistinurias humanas más frecuentes (Hoss et al., 2019). La otra revisión, por el contrario, reportaba la disminución de cisteína plasmática únicamente para la homocistinuria causada por deficiencia de CBS (Kořich & Stabler, 2020).

Defecto genético	Hcy	Cys	Referencia (Fuente)
CBS	Elevada	Baja	Kořich & Stabler, 2020. Tabla 1
MTHFR	Elevada	ND	
cbl	Elevada	ND	
CBS	Elevada	Baja	Hoss et al., 2019. Tabla 2
MTHFR	Elevada	Baja	
cbl	Elevada	Baja	

Tabla 2. Resultados discordantes respecto a los niveles de Cys (Para más información véase Anexo I).

Para intentar resolver cuál de las dos descripciones anteriores se ajusta mejor a la presentación clínica de las homocistinurias humanas, se buscaron publicaciones científicas sobre homocistinurias de las que pudiesen extraerse datos sobre los distintos metabolitos plasmáticos estudiados, localizándose 9 publicaciones aptas para dicho fin. Los resultados de dicha extracción se presentan en el Anexo 2 y en formato resumido -limitado a los datos de Hcy y Cys- en la Tabla 3.

La tabla 3 ilustra los niveles de Hcy y Cys plasmática de los pacientes reportados en dichos estudios, agrupados en 5 tipos según la causa etiológica responsable de la homocistinuria:

- i. CBS (deficiencia de la enzima CBS).
- ii. Defecto cbl (Deficiencia enzimática del metabolismo de cobalamina).
- iii. Defecto MTHFR (Deficiencia enzimática de MTHFR).
- iv. DR: defectos de remetilación (incluyen agrupados ii y iii en la publicación de referencia).
- v. Pacientes con manifestación clínica de deficiencia de cobalamina (B12) o folato (B9).

Condición (# pacientes)	Tratamiento	Hcy	Cys	Referencia (Fuente)
CBS (67)	SÍ	Elevada	ND	De Biase et al., 2020 (Tabla 1)
CBS (5)	Recibiendo B6	Elevada	Baja (4/5)	Stabler et al., 1993 (Tabla 3)
CBS (2 hermanos)	1 sin B6 53 días	Elevada	Baja	Stabler et al., 2013 (Tabla 1)
	1 sin B6 70 días	Elevada	Normal	
CBS (118)	ND	Elevada	Baja	Stabler et al., 2013 (Tabla 4)
(25)	NO	Elevada	Baja	Stabler et al., 2013 (Tabla 2)
(93)	SÍ	Elevada	Baja	Hargreaves et al., 2002 (Tabla 2)
CBS				
(11) B6-R	SÍ	Elevada	Baja	
(20) B6-NR	SÍ	Elevada	Baja	
CBS (10)	SÍ	Elevada	Baja	Kožich et al., 2019 (Fig. 3 y 4)
CBS (1)	SÍ	Elevada	Baja	Lee & Briddon, 2007 (Tabla 1)
cbl (2 hermanos)	NO	Elevada	Baja (1/2)	Heil et al., 2007 (Tabla 1)
cbl (18)	SÍ	Elevada	Baja	Pastore et al., 2014 (Tabla 1)
cbl (1)	NO	Elevada	Baja	Lee & Briddon, 2007 (Tabla 1)
	SÍ	Elevada	Normal	
cbl (21)	SÍ	Elevada	ND	De Biase et al., 2020 (Tabla 1)
cbl (3)	ND	Elevada	Baja (2/3)	Stabler et al., 1993 (Tabla 3)
cbl (2)	ND	Elevada	Normal	Stabler et al., 1993 (Tabla 3)
MTHFR (1)	ND	Elevada	ND	Stabler et al., 1993 (Tabla 3)
MTHFR (17)	SÍ	Elevada	ND	De Biase et al., 2020 (Tabla 1)
MTHFR (185)	ND	Elevada	Baja	Van der Put et al., 1996 (Texto)
DR* (6)	SÍ	Elevada	Baja	Kožich et al., 2019 (Fig. 3 y 4)
DR*				
(8)	NO	Elevada	Baja	
(36)	SÍ	Elevada	Baja	Stabler et al., 2013 (Tabla 3)
Deficiencias de cbl o THF (85)	NO	Elevada	Baja	Stabler et al., 2013 (Tabla 3)
Deficiencia de cbl (1)	ND	Elevada	ND	Stabler et al., 1993 (Tabla 1)
Deficiencia de THF (1)	ND	Elevada	ND	Stabler et al., 1993 (Tabla 1)

Tabla 3. Niveles reportados de Hcy y Cys en pacientes homocistinúricos.

Con respecto a los niveles plasmáticos de Hcy todos los datos recogidos en la tabla 3 muestran que la homocisteína plasmática se encuentra elevada, independientemente de la causa etiológica de la homocistinuria.

Con respecto a los niveles de Cys plasmática, sus niveles parecen estar disminuidos en ausencia de tratamiento respecto a los controles, cualquiera que sea la causa etiológica de la homocistinuria de las 5 recogidas en los estudios, aunque el número de pacientes sin tratamiento reportados es limitado.

Con respecto a los demás pacientes, los datos confirman la reducción de los niveles de Cys plasmática en los pacientes deficientes en CBS, en algunos casos incluso cuando están en tratamiento.

Los datos obtenidos para los pacientes con defectos enzimáticos del metabolismo de la cobalamina (Defecto cbl) parecen indicar también una reducción de la Cys plasmática, pues sus niveles parecen situarse -en el mejor de los casos- a nivel del rango inferior de los controles y con más frecuencia reducido respecto a estos.

Con respecto a los defectos de MTHFR sólo un estudio reporta datos sobre los niveles de Cys plasmática y -aunque indica que están reducidos respecto a los controles- las conclusiones parecerían limitadas a la variante termosensible de la MTHFR.

En cuanto a los estudios que reportan conjuntamente los defectos de cbl y de MTHFR (Defectos de Remetilación), coinciden en reportar bajos niveles de Cys plasmática estén los pacientes siendo tratados o no.

Finalmente, las deficiencias sintomáticas de cobalamina (B12) o tetrahidrofolato (B9) también parecen cursar con niveles reducidos de Cys plasmática.

En cuanto a la razones por las que se producen las disminuciones de Cys plasmática, parecen depender del defecto en cuestión. En el caso de deficiencia en CBS la causa subyacente parece ser la disminución del flujo de Hcy a través de la ruta de transulfuración para producir Cys, pero otros autores argumentan que los elevados niveles de Hcy plasmática en las homocistinurias desplazarían a la Cys de las proteínas reduciendo de este modo su presencia en plasma (Hoss et al., 2019).

En el caso de los defectos de remetilación se apunta otra posibilidad distinta (Kožich et al., 2019). Así, aunque los niveles de Cys total fueron significativamente más bajos en plasma en los pacientes con CBS y DR -alcanzando solamente el 72 y 70% de los controles respectivamente-, la concentración de los productos en plasma derivados de la oxidación de Cys -Taurina (Tau) e Hipotaurina (Hyp)- disminuyeron hasta un 77 y 67% en pacientes de

CBS -lo que sugiere una falta de producción de Cys-, pero aumentaron -entre 1'3 y 1'8 veces en plasma y entre 2'1 y 5'5 veces en orina- en los pacientes con DR. Lo que indica que en los desórdenes de remetilación la disminución de Cys podría ser una consecuencia de la eliminación de Cys por vías oxidativas (para producir Taurina e Hipotaurina).

Resumiendo, en las homocistinurias humanas parecen concurrir dos alteraciones de metabolitos plasmáticos, a saber: i) Hiperhomocisteinemia (H-Hcy) e ii) hipocisteinemia (h-Cys), aunque esta observación descansa sobre datos limitados.

En vista de estos resultados, parecería razonable contemplar la posibilidad de que algunas patologías descritas en las hiperhomocisteinemias pudiesen tener su origen, no en las elevaciones de Hcy, sino en una escasez de Cys, de lo que podría ser un indicador la h-Cys.

En el resto de este TFG, evaluaremos las distintas situaciones que se aborden de acuerdo con la siguiente hipótesis de trabajo:

- Una escasez de cisteína en el organismo, debe resultar en una limitada producción de aquellas moléculas que la requieran en cantidades apreciables para su síntesis.
- La limitada producción de estas moléculas resultará en una disfuncionalidad asociada con el papel que desarrollan en el organismo.

5.2. Dianas moleculares potencialmente afectadas por una baja disponibilidad de Cys.

La cisteína, además de ser un Aa proteinogénico con capacidad para establecer enlaces covalentes adicionales en las proteínas –mediante el establecimiento de puentes disulfuro–, es un precursor indispensable para la síntesis de otros importantes metabolitos del organismo, por lo que dividiremos la exposición de este apartado en 2 secciones: 5.2.1. Metabolitos derivados de Cys y 5.2.2. proteínas ricas en Cys, ya que ambos componentes podrían verse afectados por una escasez de Cys.

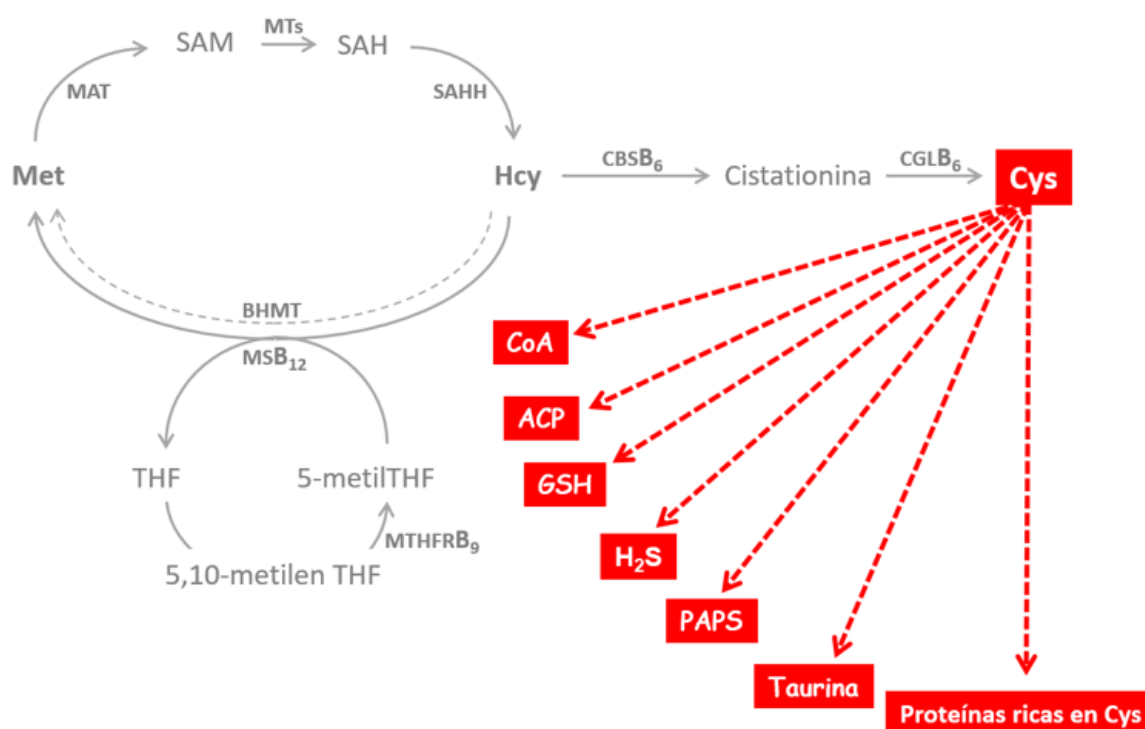


Figura 4. Dianas potencialmente afectadas por un déficit de cisteína en las homocistinurias.

CoA Coenzima A, **ACP** Proteína portadora de grupos acilo, **GSH** Glutathion, **H₂S** Ácido sulfhídrico, **PAPS** 3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato. |

5.2.1. Metabolitos derivados de Cys.

Tal como se muestra en la Figura 4, además de su importancia como componente de las proteínas de la que trataremos posteriormente, la Cys es –la materia prima– requerida para la síntesis de CoA, ACP (proteína portadora de grupos acilo), glutatión (GSH), H₂S, PAPS (3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato) y Taurina. Por consiguiente, si la presencia de h-Cys en las homocistinurias es un indicador de escasez de cisteína en el organismo, sería esperable que condujese a una alterada producción de estos metabolitos.

En este apartado se describen las funciones más representativas de estos metabolitos y su relación potencial –bajo la hipótesis contemplada- con presentaciones clínicas descritas en las homocistinurias, apoyándolas –cuando es posible- por resultados de investigación básica.

CoA y ACP: Tanto la CoA como la ACP (proteína portadora de grupos acilo) derivan su grupo funcional tiol de la cisteína. La CoA -como portador de grupos acilo- está implicada en el metabolismo de hidratos de carbono, proteínas y lípidos, teniendo -en el caso de estos últimos- un importante papel en los procesos de oxidación de ácidos grasos. La ACP es una proteína también implicada en el metabolismo lipídico que forma parte del complejo de la ácido graso sintasa, responsable de la biosíntesis de ácidos grasos.

Aunque no comentada frecuentemente, la esteatosis hepática es una presentación clínica en homocistinurias debidas a deficiencia de CBS y defectos en cbl (Gaull & Schaffner, 1971; Mack et al., 2001; Huemer et al., 2017) (ver Tabla 1), aunque se desconoce su etiología.

Bajo la hipótesis que contemplamos, una escasez de Cys provocaría descensos en la producción de ACP y CoA. En este sentido, parecen de interés las observaciones procedentes de un modelo de ratón doble KO para PANK1 y PANK2 (enzimas implicadas en la síntesis de CoA mediante fosforilación del ácido pantoténico), pues la reducción hepática de CoA en este modelo se encontró asociada a una disminución de oxidación de ácidos grasos y a una acumulación de triglicéridos en este órgano conducente a la aparición de esteatosis hepática (García et al., 2012). Este trabajo presenta un interés adicional, pues muestra que los ratones doble KO para PANK1 y PANK2 presentan una letalidad postnatal con el mismo patrón temporal que la observada en el modelo de ratón CBS-KO desarrollado por Maeda y colaboradores, que también se caracteriza por desarrollar una prominente esteatosis hepática (Watanabe et al., 1995).

GSH: La cisteína es necesaria –junto con los Aa glutámico y glicina- para la producción de glutatión (GSH), que constituye el principal mecanismo de defensa antioxidante a nivel celular, por lo que una disminución en la producción de GSH podría desembocar en alteraciones redox del organismo.

La idea de que una limitación de Cys en la homocistinuria clásica debería resultar en una limitada producción de GSH, llevó a Maclean K et al. (Maclean et al., 2018), a evaluar los niveles de GSH en hígado en un modelo de ratón deficiente en CBS, encontrándolos reducidos con respecto a los controles, un resultado concordante con la hipótesis que se postula en este TFG.

H₂S: El ácido sulfhídrico es un gas con importantes funciones reguladoras en la homeostasis vascular y neurológica. Entre ellas se ha descrito su participación en procesos como la inflamación vascular, la relajación vascular, la salud endotelial, sensor de oxígeno vascular, control de la ventilación y cardioprotección, además de participar en la neuromodulación (Beard & Bearden, 2010).

El H₂S, es producido endógenamente a partir de las actividades de 3 enzimas: CBS, CGL y 3MST (3-mercaptopiruvatosulfotransferasa) que utilizan Cys u Hcy como sustrato. Aunque en condiciones normales Cys es el sustrato utilizado en la producción de H₂S, en situaciones de H-Hcy la Hcy se convierte en el sustrato preferente de dicha producción (Sen et al., 2012)

De acuerdo con el planteamiento anterior, un déficit de Cys en las homocistinurias debería resultar en una disminución de la producción de sulfhídrico por la vía normal, pero la abundancia de Hcy en estas enfermedades podría compensar -e incluso revertir- esa situación, por lo que no sería sorprendente que los niveles de H₂S se encontrasen alterados en las homocistinurias. En este sentido, un reciente artículo reporta que los pacientes de CBS parecen presentar una producción elevada de ácido sulfhídrico acompañada concomitantemente por su mayor detoxificación, lo que resulta en niveles plasmáticos de H₂S similares a los controles, mientras que los pacientes con defectos de remetilación (MTHFR y cbl) presentaron niveles plasmáticos reducidos de H₂S respecto a los controles, aparentemente como resultado de un catabolismo incrementado de este metabolito (Kožich et al., 2019).

PAPS (3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato): Es el donante universal de sulfato activado para todas las reacciones catalizadas por sulfotransferasas en el organismo (OMIM #603005), que catalizan la transferencia de sulfato a una gran variedad de sustratos (monosacáridos, glucosaminoglucanos, proteoglucanos, etc.) que requieren esta modificación para desarrollar su función.

El PAPS es producido en el organismo en dos pasos consecutivos. En el primero, sulfato inorgánico presente en el organismo –en parte derivado de la oxidación de Cys- (Stipanuk, 2020) se combina con ATP para generar APS (adenosina-5'-fosfosulfato) que reacciona con otra molécula de ATP generando PAPS y liberando ADP. Existen en humanos 2 enzimas capaces de generar PAPS por el mecanismo anterior PAPSS1 y PAPSS2 (Venkatachalam, 2003).

Conocida la afectación clínica del sistema esquelético en diferentes homocistinurias (Tabla 1), resulta interesante que defectos genéticos en el transportador soluble de sulfato –requerido para la introducción del sulfato inorgánico a las células- o en PAPSS2 –que debería resultar en una disminución de PAPS- se hallen asociados con enfermedades que afectan al normal desarrollo de hueso y cartílago (Venkatachalam, 2003, OMIM #606718, OMIM #603005) y, más en particular –aunque se desconoce su posible relación- con la descripción de casos de escoliosis también observados en las homocistinurias.

Taurina: La taurina es un Aa no-proteinogénico muy abundante. Se acumula intracelularmente siendo importada al interior celular por TAUT (Transportador de Taurina; También conocido como SLC6A6) y dónde sus niveles alcanzan concentraciones muy elevadas respecto a la de otros Aa. La taurina es abundante en músculo, riñón, hígado, retina y cerebro (Brosnan, J. & Brosnan, M., 2006; Baliou et al., 2021).

Su procedencia en el organismo deriva directamente de la ingesta o del catabolismo de Cys y se le ha asignado -en base a su naturaleza antioxidante- un papel citoprotector en un amplio espectro de procesos que incluyen: la producción de energía, la modulación neuronal, la homeostasis del calcio y la osmorregulación (Baliou et al., 2021). También parece esencial para el desarrollo de las funciones y arquitectura de la retina (Cui et al., 2017) y se ha descrito que media efectos reductores del estrés oxidativo, aumento de la neurogénesis, capacidades antioxidantes y antiinflamatorias (Chen et al., 2019).

Para esclarecer los efectos potenciales que se derivan de una limitación de taurina en el organismo, se buscaron en OMIM defectos genéticos que pudiesen propiciarla como serían aquellas enfermedades genéticas asociadas a TAUT (SLC6A6), o aquellas asociadas a defectos genéticos en CSAD (Cisteína-sulfinato descarboxilasa) una enzima implicada en la producción de taurina a partir de Cys. La búsqueda con respecto a CSAD resultó infructuosa, pero en el caso de TAUT se han reportado cardiomiopatías y degeneración de la retina en pacientes con bajos niveles de taurina (OMIM #145350). Sin embargo, la disminución de agudeza visual reportada en pacientes con defectos de cbl no debería tener su origen en una disminución de taurina, puesto que dichos pacientes deben sus bajos niveles de Cys a un aumento de la producción de taurina (Kořich et al., 2019).

Con respecto a la homocistinuria causada por deficiencia de CBS, se han reportado disminuciones en los niveles plasmáticos y hepáticos de taurina en un modelo de ratón, que fueron revertidos a niveles normales tras suplementación con Cys (Jiang et al., 2014). Con el mismo modelo de ratón los autores observaron posteriormente que los niveles disminuidos de

GSH podían restaurarse mediante suplementación con taurina en la dieta (Maclean et al., 2018), sin que se viesen incrementados los niveles hepáticos de Cys, lo que se interpreta como que la taurina suplementada en la dieta evitaría el gasto de Cys hepática para el mantenimiento de los niveles requeridos de taurina, permitiendo así que los excedentes ahorrados de Cys sean utilizados para sintetizar GSH. Los autores indican que el efecto antioxidante asignado a la taurina podría descansar sobre este hecho.

Recientemente, el potencial terapéutico de la Taurina en esta enfermedad ha empezado a evaluarse en pacientes en un ensayo clínico (Van Hove et al., 2019).

Resumiendo, existen observaciones en la literatura científica que parecen apoyar la tesis de que una reducida disponibilidad de Cys podría ser la causa de algunas presentaciones clínicas en las homocistinurias. Según las observaciones anteriores:

- La esteatosis hepática descrita en pacientes de CBS, con defectos de cbl y descrita en modelos de ratón deficientes en CBS –cuya etiología se desconoce- pudiera tener su origen en una capacidad disminuida de producir CoA provocada por escasez de Cys.

- También parecen existir razones para sugerir que una limitada disponibilidad de Cys puede alterar la capacidad del organismo para generar GSH, lo que redundaría en una disminución de la capacidad antioxidante del organismo.

- En cuanto a la producción de H₂S en las homocistinurias, podrían presentarse efectos divergentes según la causa sea un defecto de transulfuración –con niveles de H₂S similares a los controles- o de remetilación (MTHFR y cbl) que presentarían niveles reducidos de este metabolito.

- La afectación esquelética en las homocistinurias podría tener un origen –aunque quizás menor- en una limitada disponibilidad de PAPS.

- Finalmente, aunque bajos niveles de taurina -causados por defectos genéticos- están asociados con la degeneración de la retina, no parece estar ser la causa más probable de la afectación ocular descrita en pacientes con defectos en cbl. Sin embargo, parece razonable que un gasto -a expensas de Cys- para sostener los requerimientos de taurina, pueda interferir –al depender ambos de la disponibilidad de Cys- en el mantenimiento de niveles adecuados de GSH, al menos en un modelo de ratón con deficiencia de CBS.

5.2.2. Proteínas Ricas en Cisteína (PRCs).

La Cys es un aminoácido proteinogénico “especial”. Lo es, porque es el único entre los 20 Aa estándar que permite el establecimiento de enlaces covalentes adicionales –los puentes disulfuro- capaces de proporcionar una mayor estabilidad estructural a las proteínas.

De acuerdo con la hipótesis de trabajo contemplada en este TFG las proteínas ricas en Cys representarían dianas moleculares potencialmente afectadas por una escasez de cisteína en las homocistinurias y ello debería causar una disfunción asociada con el papel realizado por estas dianas moleculares.

5.2.2.1. Proteínas humanas analizadas y criterio arbitrario utilizado para considerar a una proteína como “rica en cisteína”: PRC.

En el apartado de Metodología se ha descrito ya, la obtención, cribado y cálculo de valores comparativos de la muestra de proteínas humanas, procedente de UniProtKB.

Tras la criba inicial la población de proteínas humanas seleccionadas para análisis consta de 16.373 proteínas y la figura 5 ilustra la distribución de esta población en relación a su % de Cys.

En la distribución se aprecia que la población de proteínas –en cuanto a su contenido en Cys- tiene un sesgo a la derecha, por lo que decidimos compararla con la misma población de proteínas, pero distribuida según su contenido de Met, lo que se ilustra en la figura 6.

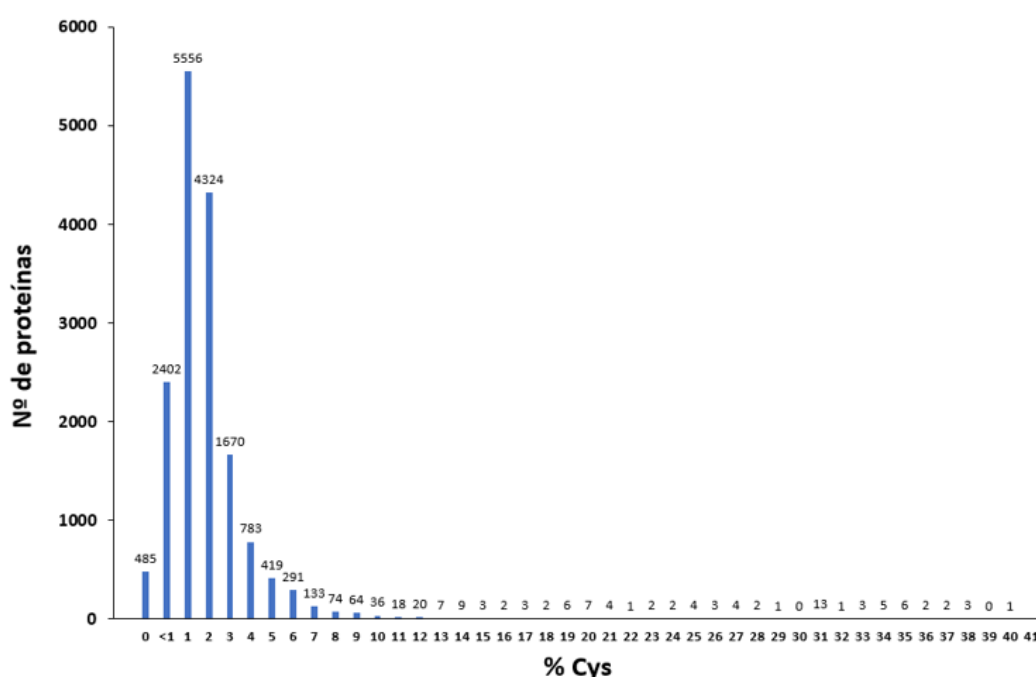


Figura 5. Distribución de la población de proteínas según su % de Cys.

En la comparación se aprecian varios hechos:

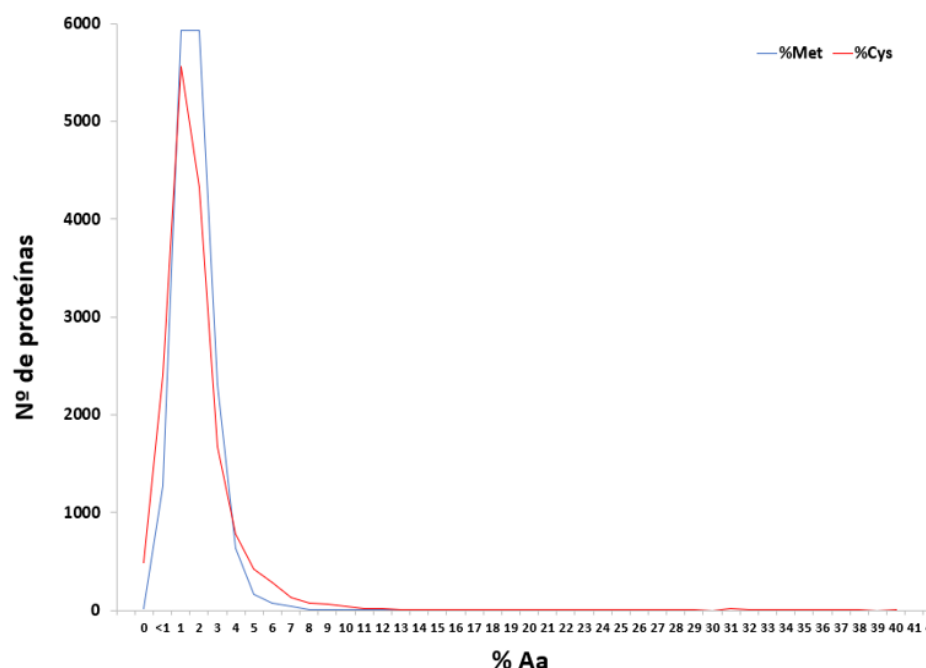


Figura 6. Comparación de las distribuciones de la población de proteínas según su contenido (%) de Met o Cys.

➤ Con un 0% del Aa considerado son más abundantes las proteínas que no contienen Cys (n: 485) que las que no contienen Met (n: 16), y esa diferencia se mantiene para proteínas con valores $<1\%$ del Aa considerado: en el caso de la distribución Cys 2.402 proteínas con $0\% < \text{Aa} < 1\%$, frente a 1.270 en el caso de la distribución Met.

- La situación anterior se invierte para porcentajes $1\% \leq \text{Aa} < 4\%$, siendo más abundantes en esa región las proteínas distribuidas por Met (n: 14.170) que las distribuidas por Cys (n: 11.550).
- Para valores superiores al 4% del Aa considerado, la situación vuelve a revertir de nuevo –y de manera definitiva- a la inicial, con un mayor nº de proteínas en la distribución Cys en valores comprendidos entre $4\% \leq \text{Aa} < 9\%$, con 1.700 proteínas en la distribución Cys, frente a 907 en la distribución Met.
- La situación se mantiene para el resto de valores. Así, para los comprendidos entre $9\% \leq \text{Aa} < 14\%$, la distribución Met sólo contiene 10 proteínas -la más rica de ellas con un 13'8% de Met- frente a los 145 representantes de la distribución Cys en esa región. En el rango de valores superiores a los mencionados, sólo existen proteínas en la distribución Cys, que aporta 91 representantes más, el último de ellos con un contenido de Cys del 41'2%.

De la comparación anterior parece adecuado concluir que la distribución de las 16.373 proteínas se encuentra sesgada con respecto a su contenido en Cys, pues a partir de valores superiores al 4% la distribución de la población cuenta con 1932 representantes según la distribución Cys frente a únicamente 917 en la distribución Met.

En cuanto a qué criterio adoptar para etiquetar a una determinada proteína como “rica en Cys (PRC)” –y por tanto susceptible a una escasez de Cys- se razonó del siguiente modo. En una distribución normal el 2'2% de la población presenta valores $\geq \mu + 2\sigma$ (Media + 2SD). Aplicando ese mismo criterio a la población de proteínas –aquellas con contenidos $\geq \mu + 2\sigma$ de Cys- 364 proteínas lo cumplían, lo que representa el 2'223% de la población. Como la aplicación de este criterio excede mínimamente –en sólo 4 proteínas- al que parecería razonable para poblaciones con distribución normal, lo adoptamos como criterio de selección. Aplicado a la población analizada, significa que consideraremos a toda proteína con un contenido de Cys $\geq 7'453\%$ una PRC.

No obstante, es preciso tener siempre en consideración que este criterio es arbitrario y que el efecto de una escasez de Cys sobre la producción de una determinada proteína, no dependerá únicamente de su contenido de Cys, sino también de la cantidad –masa- que se requiere sintetizar de esa proteína para cumplir adecuadamente sus funciones en el organismo, lo cual se desconoce a priori.

5.2.2.2. Búsqueda de PRCs potencialmente asociadas a manifestaciones clínicas en las homocistinurias.

Como ya se ha considerado en el apartado dedicado a los metabolitos derivados de Cys, consideraremos aquí también la misma hipótesis, que una escasez de Cys podría derivar en un bloqueo de la producción de PRCs y en la pérdida de función asociada a esas proteínas específicas.

Por tanto, la estrategia seguida a continuación consiste en analizar la población de 364 PRCs con la finalidad de identificar familias proteicas -o proteínas individuales- que participen en funciones cuya pérdida –caso de limitarse su producción- sugiriera su implicación potencial como agente etiológico de manifestaciones clínicas descritas en homocistinurias.

5.2.2.3. Familias proteicas con elevada representación entre las PRCs.

Un análisis de la población constituida por las 364 PRCs, nos llevó a identificar 10 familias de proteínas que contenían 5 o más representantes entre las PRCs. El total de miembros en estas 10 familias es de 136, lo que representa algo más de 1/3 (el 37'4%) de la población de PRCs.

La tabla 4, muestra un resumen de las características generales de estas familias proteicas.

Familia proteica	N.º de miembros	Tamaño (Aa)	Media de %Cys	Función
ZN	11	261-693	8,3	Factores de transcripción.
TNR	8	241-423	8,5	Receptores de Factores de necrosis tumoral.
Fibulinas	5	443-1184	9,1	Componentes de matriz extracelular.
Beta-defensinas	11	64-95	9,1	Acción antimicrobiana y/o bactericida.
WFD	6	93-231	10,6	Inhibidores de proteasas.
CCN	5	250-381	10,9	Adhesión celular, quimiotaxis, angiogénesis, etc.
LCE	17	89-118	18,9	Precusores del estrato corneo de la piel.
KRTAPs	53	52-401	25,0	Componentes de la corteza del pelo.
Metalotioneínas	10	61-68	32,6	Almacenan iones metálicos.
SCGR	10	47-120	37,4	Componentes de la corteza del pelo.

Tabla 4. Características generales de las principales familias proteicas con elevada representación entre las PRCs (Para más información, véase Anexo 3).

A continuación, describimos estas 10 familias y tratamos de relacionarlas –considerando una pérdida de función de estas proteínas- con presentaciones clínicas de las homocistinurias y/o con alteraciones patológicas descritas en modelos animales de esas enfermedades:

- La familia ZN contiene 11 miembros que presentan dedos de Zinc en su estructura, alguno de los cuales actúa como factor de transcripción y a los otros se les presupone dicha función.
- Los 8 miembros en la familia TNR actúan como receptores de TNFs (factores de necrosis tumoral).
- La familia de las fibulinas, está representada por 5 miembros que realizan su función en la matriz extracelular.
- La familia de las Beta-defensinas, con actividad bactericida-antimicrobiana, está representada por 11 miembros.
- Los 6 miembros de la familia WFD actúan como inhibidores de proteasas.
- La familia CCN posee 5 representantes que realizan funciones relacionadas con quimiotaxis, angiogénesis, adhesión y proliferación celular (Para más información ver Anexo 3).

En las 6 familias descritas, no se pudo relacionar una pérdida de función de sus miembros con presentaciones clínicas de las homocistinurias o sus modelos animales, pero en las cuatro restantes -que además son las más ricas en Cys- la situación podría ser esperanzadora.

KRTAPs y SCGR: Ambas familias de PRCs contienen proteínas asociadas a queratinas (KRTAP), que en el caso de la segunda son ricas también en Glicina. Están constituidas por proteínas cuya función se encuentra estrechamente relacionada con la corteza del cabello; son esenciales para la formación de un tallo capilar rígido y resistente.

Una producción disminuida de estas proteínas, como consecuencia de un déficit de Cys, podría ser causa etiológica del pelo ralo observado en los pacientes con deficiencia de CBS (Brenton et al., 1966; Carson et al., 1963) y/o de la prominente alopecia patente en ratones CBS-KO (Robert et al., 2004).

También cabe la posibilidad de que otras proteínas distintas –junto con las anteriores, o independientemente de ellas- pudiesen ser la causa tras estas manifestaciones, pero que no se han seleccionado entre las PRCs como consecuencia de adoptarse un criterio estricto.

Tal pudiese ser el caso de proteínas cuya mal-función está asociada con la alopecia, entre las que destacan por su contenido de Cys las queratinas 81 (6'733% Cys) y 83 (6'288% Cys) y –quizás también- la 86 (5'967% Cys). Todas ellas fueron excluidas del grupo de PRCs por el criterio adoptado que sabemos arbitrario, y por esa razón merecen consideración como agentes etiológicos potenciales de esta presentación clínica.

LCE: Pertenecen a esta familia un grupo de proteínas implicadas en la queratinización, proceso que se produce en uñas, pelo y estrato córneo de la piel. El elevado contenido medio de Cys (18,9%) en los miembros de esta familia, las haría susceptibles de disminuir su producción ante una escasez de Cys, lo que debería manifestarse en alteraciones de las estructuras en las que intervienen.

En este sentido resulta de interés que en ratones CBS-KO se hayan descrito alteraciones del estrato córneo de la piel dando lugar a hiperqueratosis (Robert et al., 2004), que podría ser la manifestación de un mecanismo de compensación ante la incapacidad de generar componentes necesarios para completar el proceso de queratinización normal.

Metalotioneinas (MT): Estas proteínas realizan importantes funciones en la regulación celular redox, la señalización del óxido nítrico y en el almacenamiento de iones metálicos (ej. zinc y cobre) para evitar sus efectos prooxidantes. Una interesante hipótesis sobre la implicación de la Hcy como factor de riesgo cardiovascular, fue avanzada por Barbato y colaboradores (Barbato et al., 2007).

Según estos investigadores, el mecanismo patogénico en las hiperhomocisteinemias procedería según la siguiente cascada de acontecimientos, que fueron investigados utilizando células endoteliales humanas. La Hcy -mediante su grupo tiol- destruiría los puentes disulfuro que estabilizan la estructura de las MT. Como consecuencia de la pérdida de su estructura, las metalotioneinas liberarían al citoplasma iones metálicos –entre ellos Zn^{2+} - que inducen en las células endoteliales la expresión de Egr-1 (Early growth response-1), un factor de transcripción con lugares de unión a los promotores de genes que codifican proteínas aterotrombogénicas, como el TF (Factor Tisular), MCP-1 (Proteína Quimiotáctica de Monocitos-1), ICAM-1 (Molécula de Adhesión InterCelular-1) y TNF- α (Factor de Necrosis Tumoral- α).

Los iones metálicos liberados tendrían un efecto prooxidante que favorecería la producción de ROS (especies reactivas del oxígeno), con el agravante adicional de que las MT homocisteiniladas perderían su capacidad para contrarrestar los efectos de los radicales superóxido (un tipo de ROS). Todos estos acontecimientos causarían disfunción endotelial y contribuirían al desarrollo y progresión de la aterotrombosis.

Como mencionaron en su día los autores del artículo anterior (Barbato et al., 2007), y se muestra en la tabla 4, las metalotioneinas son extremadamente ricas en Cys y en promedio la familia contiene un 32'6 % de Cys (Rango 29'4-34'4% Cys), por lo que parece razonable contemplar las MT como dianas potenciales afectadas por una escasez de Cys en el organismo.

Vista la cadena de acontecimientos establecida para explicar el mecanismo patogénico de la Hcy, no dejaría de resultar paradójico si los efectos prooxidantes de los iones metálicos al inicio de la cascada de acontecimientos tuviesen su origen, no en la desestabilización de las MT, sino en la reducida presencia de estas, que contribuirían con su escasez a un aumento de la concentración de iones metálicos libres en el citoplasma celular. En cuyo caso, la Hcy sólo ayudaría a rematar las ya debilitadas defensas del organismo.

5.2.2.4. PRCs asociadas a presentaciones clínicas también presentes en las homocistinurias.

A continuación, se adoptó la estrategia inversa para localizar nuevas proteínas, es decir, se utilizaron términos descriptivos de manifestaciones clínicas de las homocistinurias para identificar proteínas asociadas anteriormente con esas patologías. Las proteínas así identificadas se presentan en la tabla 5, y se discuten a continuación.

	Presentación clínica (términos de búsqueda)	Descrita en homocistinurias	PRCs identificadas como causa potencial:
Sistema Nervioso	<i>"Mental retardation"</i> <i>"Seizures" "Psychosis"</i>	CBS, cbl, MTHFR.	Progranulina Receptor de VLDLR NT2NC
Sistema cardiovascular	<i>"Thromboembolism"</i> <i>"Thrombosis"</i> <i>"Coagulation"</i>	CBS, cbl, MTHFR.	Trombomodulina
Sistema esquelético	<i>"Marfan"</i> <i>"Marfanoid"</i>	CBS, cbl.	Fibrilina 1 Fibrilina 2
	<i>"Scoliosis"</i>	CBS, cbl, MTHFR.	
	<i>"Arachnodactyly"</i>	CBS, cbl.	
Ojos	<i>"Lens dislocation"</i> <i>"Visual acuity"</i>	CBS, MTHFR. (en cbl: otra anomalía)	Fibrilina 1 LTBP2
Hígado	<i>"Steatosis" "Fatty liver"</i> <i>"Steatohepatitis"</i>	CBS, cbl	Ninguna
Riñón	<i>"Hemolytic uremic syndrome"</i>	CBS, cbl	Trombomodulina

Tabla 5. PRCs identificadas que causan presentaciones clínicas descritas también en homocistinurias.

Sistema nervioso central (SNC): La utilización de descriptores asociados a presentaciones clínicas que afectan al SNC en las homocistinurias, permitió la identificación en la base de datos de 7 PRCs.

Mediante los descriptores "Mental retardation y Seizures" se localizaron 2 PRCs, la progranulina y el receptor de VLDL (7'7%Cys). Otras 3 PRCs se identificaron utilizando únicamente el descriptor "Mental retardation", "el homólogo 2 de Notch con amino-terminal similar a proteína C" -abreviado como NT2NC-, la P-selectina y la Netrina-G2. Una PRC fue localizada únicamente por el término "Seizures", la "Proteína1-tipo-Delta" DLL1 y otra únicamente mediante el descriptor "Psychosis", la Norrina.

Es difícil dilucidar cuál –o cuáles entre ellas- pudieran ser responsables de las afecciones del SNC típicas en las homocistinurias, aunque las más ricas en Cys tendrían –según la hipótesis contemplada- más probabilidad de estar implicadas de acuerdo con la hipótesis de trabajo que se contempla.

Sin embargo, puesto que disfunciones en la progranulina (14'84%) o en el receptor de VLDL (7'67%) han sido asociadas con retraso mental y convulsiones, cualquiera de las dos parecería buena candidata para estar implicada en esas manifestaciones de las homocistinurias. Tampoco parecería razonable excluir de partida la posible participación de NT2NC, pues con un contenido del 13'98% en Cys es la segunda más rica en cisteína entre las 7 PRCs identificadas y sus déficits funcionales han sido relacionados con el retraso mental.

Los resultados aquí aportados, señalan a estas 7 PCR como dianas potenciales de una escasez de Cys en el organismo y sospechosas de las afectaciones del SNC en las homocistinurias, por lo que su investigación podría ser de interés.

Sistema cardiovascular: Si existe una manifestación clínica reconocida desde hace largo tiempo en las homocistinurias, esta es su propensión a producir trombosis y fenómenos de tromboembolismo (Hoss et al., 2019; Barbato et al., 2007; Yap, 2003).

Siguiendo la misma metodología anterior, se utilizaron descriptores asociados a estas presentaciones clínicas –“Thromboembolism”, “Thrombosis” y “Coagulation”- para identificar PRCs potencialmente asociadas con ellas, lo que dio lugar a la identificación de 3 PRCs implicadas en los procesos de coagulación y hemostasis: la trombomodulina (8'5% Cys), el inhibidor proteico del factor tisular 2: TFPI2 (7'66% Cys) y el factor de von Willebrand: vWF (8'3% Cys).

La figura 7 ilustra una nueva concepción sobre el proceso de coagulación y que difiere, en parte, de la “cascada clásica” de coagulación que figura en muchos libros de texto.

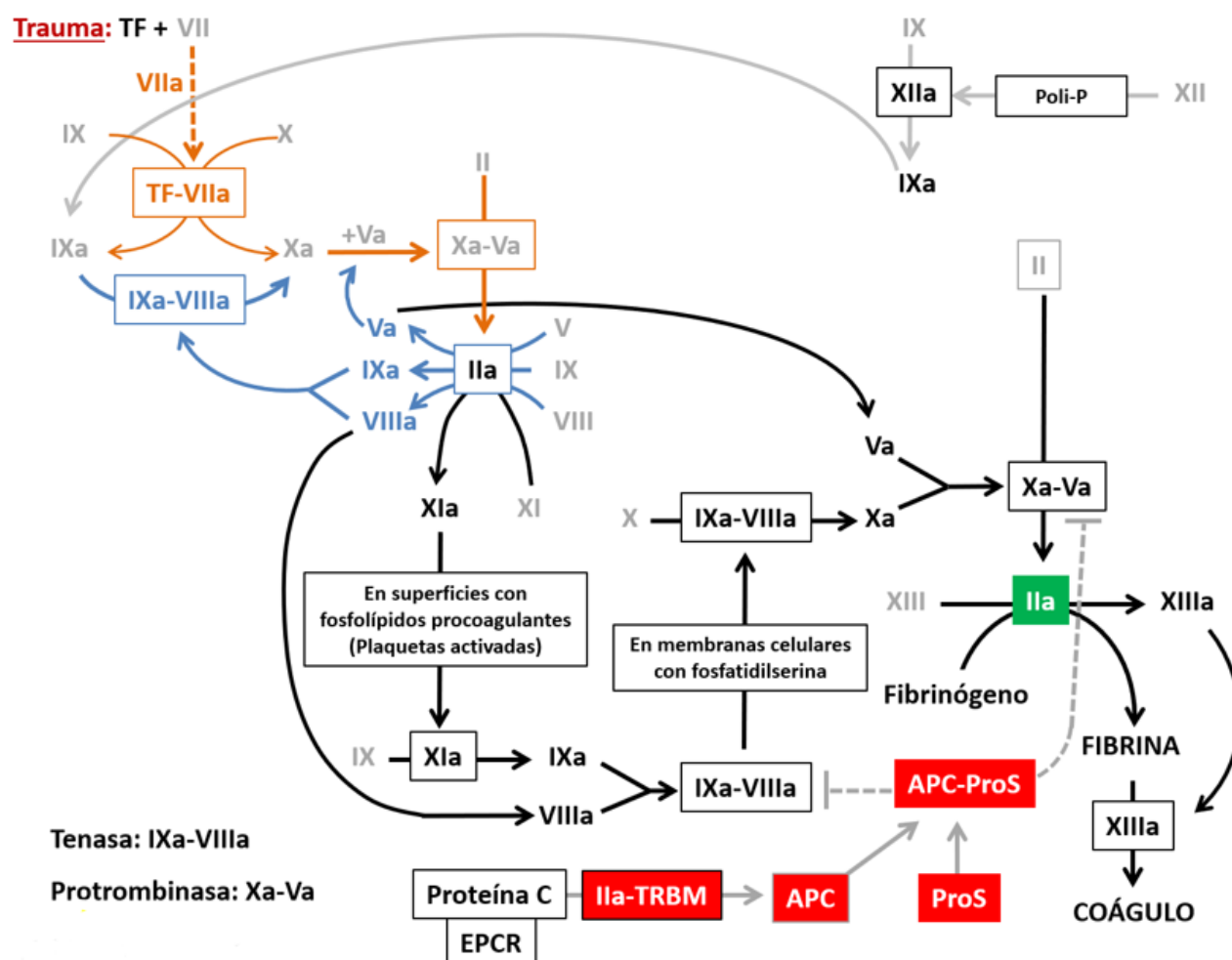


Figura 7. Cascada de coagulación. TF factor tisular, EPCR receptor proteína C endotelial, TRBM trombomodulina, APC proteína C activada, ProS proteína S, |

De acuerdo a esta visión más reciente (Versteeg et al., 2013), el proceso de coagulación se desarrolla en 3 fases:

- 1) **Fase de iniciación:** Comienza cuando la vasculatura sufre una lesión y las células subendoteliales, del musculo liso y los fibroblastos quedan expuestos al torrente sanguíneo. Estas células exponen un iniciador clave de la cascada de coagulación, el factor tisular (FT), que actuando como cofactor para FVII, promueve la proteólisis y la activación a FVIIa. El complejo, FT/FVIIa activa mediante proteólisis a los factores FIX y FX transformándolos en FIXa y FXa, lo que permite que FXa se asocie con el cofactor FVa generando la protrombinasa (Xa/Va) que convierte la protrombina (FII) en trombina (FIIa).

- 2) **Fase de ampliación:** La trombina se acumula lentamente y se activan aún más las plaquetas que se adhieren al sitio lesionado. A su vez, la trombina convierte los factores FV en FVa (amplificando la actividad de la protrombinasa), FVIII en FVIIIa y FIX en FIXa, los 2 últimos FIXa/FVIIIa en la superficie de las plaquetas contribuyen a la generación de FXa. Además, la trombina también convierte el FXI en FXIa.
- 3) **Fase de propagación:** Tiene lugar en superficies que contienen fosfolípidos procoagulantes, como las plaquetas activadas. FXIa convierte FIX en FIXa, que luego se asocia con FVIIIa. En las membranas celulares con fosfatidilserina, el complejo tenasa (FIXa/FVIIIa) cataliza la conversión de FX en FXa, tras lo cual el complejo FXa/FVa produce cantidades suficientes de trombina para formar fibrina –a partir de fibrinógeno- de forma masiva. Finalmente, la transglutaminasa FXIIIa plasmática activada por trombina cataliza la formación de enlaces cruzados covalentes entre cadenas de fibrina adyacentes para producir el coágulo.

Una vez expuesta la cascada de coagulación podemos apreciar mejor la función realizada por la trombomodulina. Esta proteína es una proteína transmembrana expresada por las células endoteliales. La trombomodulina forma un complejo estequiométrico 1:1 con la trombina (IIa), tras lo cual la trombina convierte proteolíticamente a la proteína C (ProC) -que se halla unida a EPCR- en ProC activada (APC). La APC se une entonces a su cofactor -la proteína S (ProS)- y comienza a degradar proteolíticamente a los factores Va y VIIIa, inhibiendo la formación de más trombina y más fibrina, e impidiendo que el proceso de coagulación se des controle. Mediante este proceso el endotelio sano inhibe la coagulación evitando su propagación y la limita a la zona vascular dañada.

Bajo una escasez de cisteína, podría producirse un déficit de trombomodulina que limitaría la conversión de ProC en APC, reduciendo la formación del complejo APC-ProS y resultando en un control inadecuado de la coagulación. Un hecho que subraya la importancia del mecanismo de control de la coagulación ejercido mediante la trombomodulina, la ProC y ProS, es que los defectos genéticos en cualquiera de estas proteínas se encuentran asociados a trombofilia (OMIM #612286, #176880 & #188040).

Otra conexión potencial interesante entre la trombomodulina y una patología manifestada en ratones CBS-KO, merece consideración. Se trata de la infertilidad femenina observada en este modelo de ratón, pues las hembras -aunque capaces de concebir- no son capaces de llevar el embarazo a término (Guzmán et al., 2006). Curiosamente, está misma patología –

letalidad embrionaria- ha sido reportada en un modelo de ratón *Thbd*^{-/-} (knock-out para el gen de la trombomodulina) y su mecanismo desentrañado (Isermann et al., 2003), por lo que sería interesante comprobar si la infertilidad femenina observada en el modelo CBS-KO está mediada por una reducida producción de trombomodulina y se produce mediante el mismo mecanismo descrito en ratones *Thbd*^{-/-}.

Prosiguiendo con nuestra búsqueda y utilizando el descriptor “coagulation”, otra de las PRCs identificada ha sido el factor de von Willebrand (vWF) que -aunque no interviene directamente en la cascada de coagulación propiamente dicha- cumple un importante papel en la hemostasis, con respecto a la agregación plaquetaria. El vWF promueve la adhesión de plaquetas a los lugares en que un vaso ha sufrido una perforación. El vWF forma un puente molecular entre la matriz de colágeno subendotelial y un complejo de glicoproteínas GPIb-IX-V localizado en la superficie plaquetaria. A continuación, las plaquetas se activan y secretan contenidos granulares, se agregan a través de integrinas, y producen trombina. Tras desarrollar una superficie procoagulante, forman un trombo contraído con fibrina, taponando la perforación (Versteeg et al., 2013).

Por tanto, un déficit en la producción del factor de von Willebrand –debido a escasez de Cys- debería resultar en una propensión al sangrado, es decir a las hemorragias. Aunque esa es la consecuencia asociada a los defectos genéticos de esta proteína (OMIM #613160), no se conocen descripciones en las homocistinurias de tal anomalía de la hemostasis.

Aquí nos encontramos con una situación que serviría como test de nuestra hipótesis. Según esta, la tendencia a la hemorragia debiera manifestarse de forma más severa en las homocistinurias caracterizadas por un flujo menor a través de la transulfuración –por producir menos Cys-, o lo que es lo mismo que alcanzan niveles más elevados de H-Hcy.

Puesto que los niveles de homocisteína plasmática varían en función de la causa genética que los produce, y que el orden de severidad de las H-Hcy parece ser CBS >MHTFR >cbl (Al Mutairi, 2020), los tiempos de sangrado debieran ser más prolongados en los primeros y menores en los últimos, si la hipótesis adoptada es correcta y el vWF estuviese afectado por una escasez de Cys.

Con respecto a la última de las PRCs identificadas, el inhibidor proteico del factor tisular 2 (TFPI2), pese a su nombre, no parece tener una función en el proceso de coagulación. Sin embargo, el inhibidor proteico del factor tisular 1 (TFPI1), con el que TFPI2 presenta homología –y por lo que recibió ese nombre-, es un importante regulador de la coagulación

(Wood et al., 2014). El TFPI1 es una proteína con un contenido nada despreciable de Cys (6'25%), pero excluida como PRC por el criterio adoptado aquí para seleccionar las PRCs. Esto no descarta su potencial para estar implicado en los fenómenos de tromboembolismo comunes a las homocistinurias, pues –como se mencionó anteriormente- una proteína para ser afectada por una escasez de Cys no depende únicamente de su % Cys, sino también –aplicado al caso de esta- de la masa de TFPI1 que el organismo requiere para satisfacer adecuadamente su función. Numerosos estudios, han correlacionado la baja concentración plasmática de TFPI con la enfermedad clínica protrombótica, incluida la aterosclerosis, la enfermedad de las arterias coronarias, el accidente cerebrovascular isquémico y la enfermedad oclusiva de las arterias periféricas. (Winckers et al., 2013).

Las razones esgrimidas para no despreciar el potencial de TFPI1 en esta patología, son igualmente válidas para el activador de plasminógeno tisular (TPA). Con un contenido de 6'76% Cys, TPA participa en la resolución de trombos y coágulos mediante fibrinólisis, y su deficiencia deriva en hipofibrinólisis que puede conducir a trombosis o embolismos (OMIM #173370).

Sintetizando, tras la identificación de estas PRCs -y otras proteínas de contenido no despreciable en Cys (Véase Anexo 4 para más información)- y la confirmación de los papeles que realizan en la coagulación, hemostasis y resolución de trombos, parecen existir indicios para valorar, especialmente de forma conjunta, su potencial implicación –por pérdida de función- en los fenómenos de tromboembolismo asociados a las homocistinurias.

Características marfanoides: En los aparatos esquelético y ocular se agrupan las presentaciones clínicas con características Marfanoides de las homocistinurias. Para la identificación de PRCs potencialmente implicadas, se utilizaron en este caso descriptores acordes a estas PCs: “Marfan”, “Marfanoid”, “Scoliosis”, “Arachnodactyly”, “Lens dislocation” y “Visual acuity” y se localizaron 9 proteínas que pudiesen ser responsables –Fibrilina1 (FBN1), Fibrilina2 (FBN2), Fibulina4 (FBLN4), Receptor-“scavenger”-2-de-células-endoteliales (SREC2), Proteína10-múltiples-dominios-similar-EGF (MEG10), Proteína4-unión-a-TGFβ-latente (LTBP4), Proteína1-4'5-dominios-LIM (FHL1), Proteína3-tipo-Delta (DLL3) y Proteína2-unión-a-TGFβ-latente (LTBP2)-.

Excepto LTBP2, identificada mediante el localizador “Lens dislocation”, las 8 restantes afectan al sistema esquelético. Entre estas, las de mayor contenido en Cys son: MEG10 (12'98%), Fibrilina1 (12'57%) y Fibrilina2 (12'47%). Sin embargo, con independencia del contenido de Cys, la Fibrilina1 se ha encontrado relacionada con las cuatro PCs descritas: Síndrome de

Marfan, Aracnodactilia, Escoliosis y Dislocación del cristalino y la Fibrilina2 con Aracnodactilia y Escoliosis. Las 7 proteínas restantes se han relacionado únicamente con una presentación clínica -aracnodactilia o escoliosis-, por ello, basándonos en el número de PCs asociadas a anomalías funcionales de estas PRCs, las fibrilinas parecerían mejores candidatos responsables de estas PCs en las homocistinurias; Principalmente la Fibrilina1.

La fibrilina1 es una glicoproteína con 2871 Aa de los cuales, 361 son residuos de Cys; esto implica que esta proteína se encuentra formada por un 12,57% de Cys, una proporción muy alta. Además, mutaciones en el gen que codifica esta proteína causan el llamado Síndrome de Marfan, el cual comparte numerosas de las presentaciones clínicas en las homocistinurias (aracnodactilia, escoliosis y dislocación del cristalino). Esta superposición de síntomas sugiere que quizá la función de la fibrilina-1 se encuentre también alterada en las homocistinurias.

Esta asociación causal ya fue adelantada por Majors y Pyeritz, que evaluaron tanto el efecto de elevados niveles de Hcy -como deficientes en Cys- sobre la síntesis y/o deposición de fibrilina-1 (Majors & Pyeritz, 2000). Sus resultados revelaron que ante concentraciones bajas de Cys disminuía enormemente la deposición de esta proteína clave, y sin embargo, en contraste, ante condiciones de excesiva Hcy no se vio ningún efecto en la deposición de fibrilina-1. Por otro lado, mutaciones en el gen que codifica la fibrilina-2 son responsables de la aracnodactilia (Putnam et al., 1995) y también está relacionada con escoliosis.

Estos resultados apoyan la hipótesis de que bajos niveles de Cys podrían ser causantes – mediante la disfunción asociada a fibrilinas- de las presentaciones clínicas con afectación esquelética en las homocistinurias.

Por el otro lado, con respecto a las afectaciones oculares, la utilización del descriptor “Lens dislocation” permitió la localización de LTBP2 (8’79% Cys), y de la Fibrilina1 que pudiesen ser responsables en la patogénesis de la dislocación del cristalino descrita en las homocistinurias. No se localizó ninguna PRC utilizando el descriptor “visual acuity” que es la afectación ocular –pérdida de agudeza visual- comúnmente descrita en defectos de cbl.

Hígado: Mediante los descriptores “Fatty liver”, “Steatosis”, “Steatohepatitis” no se identificó ninguna PRC; pero parece pertinente recordar que en el apartado dedicado a los metabolitos ya se ha expuesto que el hígado graso descrito en pacientes y modelo animal de CBS, podría deber su etiología a una producción disminuida de CoA, como consecuencia de la limitada disponibilidad de Cys.

Riñón: Por último, en el sistema renal se ha encontrado una PCR -ya comentada previamente-, a través del descriptor “Hemolytic uremic syndrome”, la trombomodulina (TRBM); proteína transmembrana del endotelio involucrada en la hemostasis y la coagulación y cuya deficiencia es causa de una forma atípica del Síndrome Hemolítico Urémico. Este síndrome se caracteriza por presentar anemia microangiopática hemolítica, trombocitopenia y fallo renal, y ha sido descrito tanto en pacientes CBS como cbl (Véase Tabla 1), por lo tanto, una disfunción de la trombomodulina –causada por una escasez de Cys- podría ser responsable de esta afectación en homocistinurias.

Para finalizar esta sección, en la tabla 6 se recogen los ejemplos más destacados de dianas moleculares –sensibles a una escasez de Cys- identificadas en este TFG como potenciales causas de manifestaciones clínicas de las homocistinurias.

Moléculas potencialmente responsables.	Manifestación patológica en homocistinurias.
CoA	-Esteatosis hepática (CBS y defectos de cbl humanos) -Esteatosis hepática en ratones deficientes en CBS. -Elevada letalidad posnatal en ratones CBS-KO.
GSH Taurina Metalotioneínas	-Desequilibrios redox en humanos y modelos animales.
Progranulina Receptor de VLDL NT2NC	-Retraso mental.
Fibrilina1	-Apariencia marfanoide. -Aracnodactilia. -Escoliosis. -Dislocación del cristalino.
Trombomodulina	-Trombosis y tromboembolismo. -Síndrome hemolítico urémico. -Infertilidad femenina en ratones CBS-KO
Con alta Cys, pero no PRCs: <i>Inhibidor 1 del factor tisular</i> TFPI1 <i>Activador del plasminógeno</i> TPA	<i>¿Trombosis y tromboembolismo?</i>

Tabla 6. Dianas moleculares –sensibles a escasez de Cys- identificadas como causa potencial de presentaciones clínicas en las homocistinurias.

6. ESTRATEGIAS NUTRICIONALES POTENCIALES EN EL TRATAMIENTO DE LAS HOMOCISTINURIAS.

A la luz de los resultados obtenidos en el desarrollo de este TFG, convendría considerar la posibilidad de que las homocistinurias cursen con una cara oculta –una escasez de Cys- que no ha sido reconocida científicamente y que ha sido minusvalorada respecto al tratamiento terapéutico de los pacientes.

La identificación en este TFG de numerosas dianas moleculares que podrían explicar manifestaciones clínicas de las homocistinurias, aduciendo como punto de partida una idea muy sencilla, “Que la h-Cys podría indicar una escasez de Cys en el organismo, y que tal situación debería limitar la producción de metabolitos y proteínas que dependen de un suministro adecuado de este Aa”, es sorprendente y, aunque no sirva como demostración de la hipótesis, sí que hace poner en duda que todas las identificaciones realizadas obedezcan a la mera casualidad.

Asumamos por un momento que las identificaciones responden a la causalidad preguntémonos: ¿Cómo podríamos utilizar esta nueva información en beneficio de los pacientes?

La respuesta más breve que puede darse es “restableciendo los niveles de Cys a la normalidad” (200-250 $\mu\text{M/L}$ en humanos). Esa parecería, razonablemente, la meta a alcanzar en el caso de que alguna de las manifestaciones clínicas de las homocistinurias fuese debida a una escasez de cisteína.

Con este objetivo, se propone una estrategia nutricional, para tratar y mejorar la sintomatología y tasa de supervivencia en estos pacientes.

Como se expone en la figura 8, un suplemento de Cys exógeno mejoraría los niveles de Cys, desbloqueando la síntesis de PRCs, y reduciendo a su vez Met y –por tanto- Hcy. Además, la inclusión de Taurina exógena, evitaría el consumo de Cys que requiere la producción de Taurina y permitiría aumentar también los niveles de GSH y – en último término- reponer los de Cys. Está estrategia en combinación con limitar la ingesta de Met en pacientes CBS –no aplicable a pacientes de cbl y MTHFR-, y evitar situaciones de ayuno que favorezcan la degradación proteica –que liberaría Cys pero también Met- permitirían, en principio, restablecer los niveles de Cys plasmática hasta niveles normales.

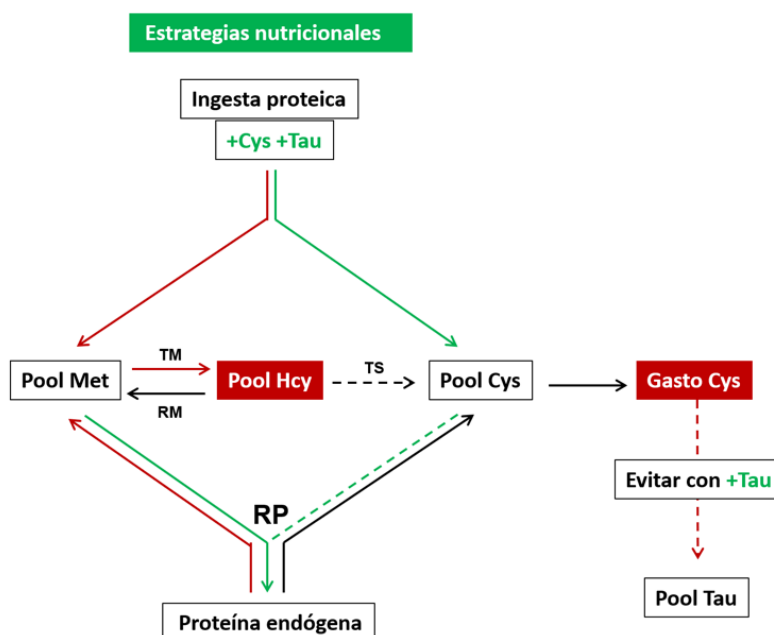


Figura 8. Estrategias nutricionales en pacientes con homocistinurias.

También podría ser beneficioso el suministro de suplementos de Cys entre comidas para mantener el pool de Cys en niveles normales.

7. CONCLUSIONES

1. Las homocistinurias parecen cursar con H-Hcy e h-Cys, aunque esta conclusión descansa sobre información incompleta.
2. Si la primera conclusión es acertada, parte de las patologías comunes de las homocistinurias podrían deberse a una escasez de Cys en estos pacientes.
3. La adopción de una hipótesis sencilla que postula: “Una escasez de Cys resultará en una limitada producción de componentes que requieran Cys, causando una disfunción de estos...” ha permitido identificar numerosas dianas moleculares potencialmente responsables de notables manifestaciones clínicas presentes en las homocistinurias, y puede servir para la identificación de muchas otras.
4. Todas las hipótesis avanzadas en este trabajo pueden evaluarse experimentalmente en el modelo de ratón CBS-KO generado por Nobuyo Maeda.
5. Asumiendo que los resultados obtenidos no son fruto de la casualidad, se avanzan estrategias nutricionales que podrían tener importantes beneficios terapéuticos en el tratamiento de estos pacientes.
6. Las estrategias nutricionales propuestas podrían contribuir a evitar una carga adicional que recae –en casos severos- sobre los niños y tiene consecuencias para el resto de su vida: el retraso mental.

8. BIBLIOGRAFIA

Al Mutairi, F. (2020). Hyperhomocysteinemia: Clinical Insights. *Journal Of Central Nervous System Disease*, 12, 117957352096223. doi: 10.1177/1179573520962230

Aljassim, N., Alfadhel, M., Nashabat, M., & Eyaid, W. (2020). Clinical presentation of seven patients with Methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *Molecular Genetics And Metabolism Reports*, 25, 100644. doi: 10.1016/j.ymgmr.2020.100644

Baliou, S., Adamaki, M., Ioannou, P., Pappa, A., Panayiotidis, M. I., Spandidos, D. A., Christodoulou, I., Kyriakopoulos, A. M., & Zoumpourlis, V. (2021). Protective role of taurine against oxidative stress (Review). *Molecular medicine reports*, 24(2), 605. <https://doi.org/10.3892/mmr.2021.12242>

Barbato JC, Catanesu O, Murray K, DiBello PM, Jacobsen DW (2007). Targeting of metallothionein by L-homocysteine: a novel mechanism for disruption of zinc and redox homeostasis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 27: 49–54.

Beard, R. S., Jr, & Bearden, S. E. (2010). Vascular complications of cystathionine β -synthase deficiency: future directions for homocysteine-to-hydrogen sulfide research. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 300(1), H13–H26. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00598.2010>

Binet, F., & Sapieha, P. (2015). ER Stress and Angiogenesis. *Cell metabolism*, 22(4), 560–575. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.07.010>

Blom, H., & Smulders, Y. (2010). Overview of homocysteine and folate metabolism. With special references to cardiovascular disease and neural tube defects. *Journal Of Inherited Metabolic Disease*, 34(1), 75–81. doi: 10.1007/s10545-010-9177-4

Brenton, D. P., Cusworth, D. C., Dent, C. E., & Jones, E. E. (1966). Homocystinuria. Clinical and dietary studies. *The Quarterly journal of medicine*, 35(139), 325–346.

Brosnan, J. T., & Brosnan, M. E. (2006). The sulfur-containing amino acids: an overview. *The Journal of nutrition*, 136(6 Suppl), 1636S–1640S. <https://doi.org/10.1093/jn/136.6.1636S>

Carson, N. A., Cusworth, D. C., Dent, C. E., Field, C. M., Neill, D. W., & Westall, R. G. (1963). Homocystinuria: a new inborn error of metabolism associated with mental deficiency. *Archives of disease in childhood*, 38(201), 425–436. <https://doi.org/10.1136/adc.38.201.425>

Carson, N., & Neill, D. (1962). Metabolic Abnormalities Detected in a Survey of Mentally Backward Individuals in Northern Ireland. *Archives Of Disease In Childhood*, 37(195), 505–513. doi: 10.1136/adc.37.195.505

Carson, N., Dent, C., Field, C., & Gaull, G. (1965). Homocystinuria. *The Journal Of Pediatrics*, 66(3), 565–583. doi: 10.1016/s0022-3476(65)80121-4

CBS database-all mutations. (2021). Retrieved 31 May 2021, from <http://cbs.lf1.cuni.cz/mutations.php>

Chen, C., Xia, S., He, J., Lu, G., Xie, Z., & Han, H. (2019). Roles of taurine in cognitive function of physiology, pathologies and toxication. *Life sciences*, 231, 116584. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116584>

- Chrysant, S., & Chrysant, G. (2018). The current status of homocysteine as a risk factor for cardiovascular disease: a mini review. *Expert Review Of Cardiovascular Therapy*, 16(8), 559-565. doi: 10.1080/14779072.2018.1497974
- Coelho, D., Suormala, T., Stucki, M., Lerner-Ellis, J., Rosenblatt, D., Newbold, R., Baumgartner, M., & Fowler, B. (2008). Gene identification for the cblD defect of vitamin B12 metabolism. *The New England journal of medicine*, 358 14, 1454-64.
- Couser, N., McClure, J., Evans, M.W., Haines, N.R., Burden, S., & Muenzer, J. (2017). Homocysteinemia due to MTHFR deficiency in a young adult presenting with bilateral lens subluxations. *Ophthalmic Genetics*, 38, 91 - 94.
- Cui, X., Navneet, S., Wang, J., Roon, P., Chen, W., Xian, M., & Smith, S. B. (2017). Analysis of MTHFR, CBS, Glutathione, Taurine, and Hydrogen Sulfide Levels in Retinas of Hyperhomocysteinemic Mice. *Investigative ophthalmology & visual science*, 58(4), 1954–1963. <https://doi.org/10.1167/iovs.16-21247>
- De Biase, I., Gherasim, C., La'ulu, S., Asamoah, A., Longo, N., & Yuzyuk, T. (2020). Laboratory evaluation of homocysteine remethylation disorders and classic homocystinuria: Long-term follow-up using a cohort of 123 patients. *Clinica Chimica Acta*, 509, 126-134. doi: 10.1016/j.cca.2020.06.014
- Froese, D.S., Fowler, B., & Baumgartner, M. (2019). Vitamin B12, folate, and the methionine remethylation cycle—biochemistry, pathways, and regulation. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 42, 673 - 685.
- Frosst, P., Blom, H., Milos, R., Goyette, P., Sheppard, C., & Matthews, R. et al. (1995). A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature Genetics*, 10(1), 111-113. doi: 10.1038/ng0595-111
- Fu, Y., Wang, X., & Kong, W. (2017). Hyperhomocysteinaemia and vascular injury: advances in mechanisms and drug targets. *British Journal Of Pharmacology*, 175(8), 1173-1189. doi: 10.1111/bph.13988
- Ganguly P, AlamSF (2015). Role of homocysteine in the developmentof cardiovascular disease. *Nutr J* 14: 6.
- Garcia, M., Leonardi, R., Zhang, Y. M., Rehg, J. E., & Jackowski, S. (2012). Germline deletion of pantothenate kinases 1 and 2 reveals the key roles for CoA in postnatal metabolism. *PloS one*, 7(7), e40871. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040871>
- Gaull, G., Schaffner, F. Electron Microscopic Changes in Hepatocytes of Patients with Homocystinuria. *Pediatr Res* 5, 23–32 (1971). <https://doi.org/10.1203/00006450-197101000-00005>
- Gibson, J., Carson, N., & Neill, D. (1964). Pathological findings in homocystinuria. *Journal Of Clinical Pathology*, 17(4), 427-437. doi: 10.1136/jcp.17.4.427
- Guzmán, M. A., Navarro, M. A., Carnicer, R., Sarría, A. J., Acín, S., Arnal, C., Muniesa, P., Surra, J. C., Arbonés-Mainar, J. M., Maeda, N., & Osada, J. (2006). Cystathionine beta-synthase is essential for female reproductive function. *Human molecular genetics*, 15(21), 3168–3176. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddl393>
- Hargreaves, I. P., Lee, P. J., & Briddon, A. (2002). Homocysteine and cysteine - albumin binding in homocystinuria: assessment of cysteine status and implications for glutathione synthesis?. *Amino acids*, 22(2), 109–118. <https://doi.org/10.1007/s007260200000>

Heil, S.G., Hogeveen, M., Kluijtmans, L.A.J., van Dijken, P.J., van de Berg, G.B., Blom, H.J. and Morava, E. (2007). Marfanoid features in a child with combined methylmalonic aciduria and homocystinuria (CblC type). *J Inherit Metab Dis*, 30: 811-811. <https://doi-org.cuarzo.unizar.es/9443/10.1007/s10545-007-0546-6>

Hoss, G., Poloni, S., Blom, H., & Schwartz, I. (2019). Three Main Causes of Homocystinuria: CBS, cblC and MTHFR Deficiency. What do they Have in Common? *J. Inborn Errors Metab. Screen*, e20190007-e20190007. *Journal of Inborn Errors of Metabolism and Screening*. Vol 7. doi: 10.1590/2326-4594-jiems-2019-0007.

Hossain GS, van Thienen JV, Werstuck GH, Zhou J, Sood SK, Dickhout JG et al. (2003). TDAG51 is induced by homocysteine, promotes detachment-mediated programmed cell death, and contributes to the development of atherosclerosis in hyperhomocysteinemia. *J Biol Chem* 278: 30317–30327.

Hubmacher D, Cirulis JT, Miao M, Keeley FW, Reinhardt DP. (2009). Functional Consequences of Homocysteinylation of the Elastic Fiber Proteins Fibrillin-1 and Tropoelastin. *The Journal of biological chemistry*. 285. 1188-98. 10.1074/jbc.M109.021246.

Huemer, M., & Baumgartner, M. (2019). The clinical presentation of cobalamin-related disorders: From acquired deficiencies to inborn errors of absorption and intracellular pathways. *Journal Of Inherited Metabolic Disease*, 42(4), 686-705. doi: 10.1002/jimd.12012

Huemer, M., Diodato, D., Schwahn, B., Schiff, M., Bandeira, A., Benoist, J., Burlina, A., Cerone, R., Couce, M., García-Cazorla, Á., Marca, G.L., Pasquini, E., Vilarinho, L., Weisfeld-Adams, J., Kožich, V., Blom, H., Baumgartner, M., & Dionisi-Vici, C. (2017). Guidelines for diagnosis and management of the cobalamin-related remethylation disorders cblC, cblD, cblE, cblF, cblG, cblJ and MTHFR deficiency. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 40, 21 - 48. doi: 10.1007/s10545-016-9991-4

Isermann, B., Sood, R., Pawlinski, R., Zogg, M., Kalloway, S., Degen, J. L., Mackman, N., & Weiler, H. (2003). The thrombomodulin-protein C system is essential for the maintenance of pregnancy. *Nature medicine*, 9(3), 331–337. <https://doi.org/10.1038/nm825>

Jakubowski H (1999). Protein homocysteinylation: possible mechanism underlying pathological consequences of elevated homocysteine levels. *FASEB J* 13: 2277–2283.

Jiang, H., Stabler, S. P., Allen, R. H., Abman, S. H., & Maclean, K. N. (2014). Altered hepatic sulfur metabolism in cystathionine β -synthase-deficient homocystinuria: regulatory role of taurine on competing cysteine oxidation pathways. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 28(9), 4044–4054. <https://doi.org/10.1096/fj.14-253633>

Jurkowska, H., Kaczor-Kamińska, M., Bronowicka-Adamska, P., & Wróbel, M. (2014). γ -Liaza cystationinowa [Cystathionine γ -lyase]. *Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej (Online)*, 68, 1–9. <https://doi.org/10.5604/17322693.1085372>

Kamat PK, Mallonee CJ, George AK, Tyagi SC, Tyagi N (2016). Homocysteine, alcoholism, and its potential epigenetic mechanism. *Alcohol Clin Exp Res* 40: 2474–2481.

Kanwar, Y., Manaligod, J., & Wong, P. (1976). Morphologic Studies in a Patient with Homocystinuria due to 5,10-Methylenetetrahydrofolate Reductase Deficiency. *Pediatric Research*, 10(6), 598-609. doi: 10.1203/00006450-197606000-00008

Kim, J., Kim, H., Roh, H., & Kwon, Y. (2018). Causes of hyperhomocysteinemia and its pathological significance. *Archives Of Pharmacal Research*, 41(4), 372-383. doi: 10.1007/s12272-018-1016-4

KimKM, Pae HO, Zheng M, Park R, KimYM, Chung HT (2007). Carbon monoxide induces heme oxygenase-1 via activation of protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase and inhibits endothelial cell apoptosis triggered by endoplasmic reticulum stress. *Circ Res* 101: 919–927.

Kožich, V., & Stabler, S. (2020). Lessons Learned from Inherited Metabolic Disorders of Sulfur-Containing Amino Acids Metabolism. *The Journal Of Nutrition*, 150(Supplement_1), 2506S-2517S. doi: 10.1093/jn/nxaa134

Kožich, V., Ditrói, T., Sokolová, J., Křížková, M., Krijt, J., Ješina, P., & Nagy, P. (2019). Metabolism of sulfur compounds in homocystinurias. *British Journal Of Pharmacology*, 176(4), 594-606. doi: 10.1111/bph.14523

Lee, P. J., & Briddon, A. (2007). A rationale for cystine supplementation in severe homocystinuria. *Journal of inherited metabolic disease*, 30(1), 35–38. <https://doi.org/10.1007/s10545-006-0452-3>

Mack, C. L., Emerick, K. M., Kovarik, P., & Charrow, J. (2001). Early speech delay and hepatitis as presenting signs of homocystinuria. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 33(2), 221–223. <https://doi.org/10.1097/00005176-200108000-00026>

Maclean, K. N., Jiang, H., Aivazidis, S., Kim, E., Shearn, C. T., Harris, P. S., Petersen, D. R., Allen, R. H., Stabler, S. P., & Roede, J. R. (2018). Taurine treatment prevents derangement of the hepatic γ -glutamyl cycle and methylglyoxal metabolism in a mouse model of classical homocystinuria: regulatory crosstalk between thiol and sulfinic acid metabolism. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 32(3), 1265–1280. <https://doi.org/10.1096/fj.201700586R>

Majors, A. K., & Pyeritz, R. E. (2000). A deficiency of cysteine impairs fibrillin-1 deposition: implications for the pathogenesis of cystathionine beta-synthase deficiency. *Molecular genetics and metabolism*, 70(4), 252–260. <https://doi.org/10.1006/mgme.2000.3024>

Martí-Carvajal, A., Solà, I., Lathyris, D., & Dayer, M. (2017). Homocysteine-lowering interventions for preventing cardiovascular events. *Cochrane Database Of Systematic Reviews*. doi: 10.1002/14651858.cd006612.pub5

Massadeh, S., Umair, M., Alaamery, M., & Alfadhel, M. (2019). A Novel Homozygous Non-sense Mutation in the Catalytic Domain of MTHFR Causes Severe 5,10-Methylenetetrahydrofolate Reductase Deficiency. *Frontiers In Neurology*, 10. doi: 10.3389/fneur.2019.00411

McCully, K. (1969). Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *The American Journal Of Pathology*, 56(1), 111. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2013581/>

McCully, K. (2005). Hyperhomocysteinemia and arteriosclerosis: historical perspectives. *Clinical Chemistry And Laboratory Medicine (CCLM)*, 43(10). doi: 10.1515/cclm.2005.17

McCully, K., & Wilson, R. (1975). Homocysteine theory of arteriosclerosis. *Atherosclerosis*, 22(2), 215-227. doi: 10.1016/0021-9150(75)90004-0

Morris, A., Kožich, V., Santra, S., Andria, G., Ben-Omran, T., & Chakrapani, A. et al. (2017). Guidelines for the diagnosis and management of cystathionine beta-synthase deficiency. *Journal Of Inherited Metabolic Disease*, 40(1), 49-74. doi: 10.1007/s10545-016-9979-0

Munoz T., Patel J., Badilla-Porras R., Kronick J., Mercimek-Mahmutoglu S. (2015). Severe scoliosis in a patient with severe methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *Brain Dev* 37:168–170

Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: {#145350}: {26/08/2021}: . World Wide Web URL: <https://omim.org/>

Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: {#606718}: {26/08/2021}: . World Wide Web URL: <https://omim.org/>

Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: {#603005}: {26/08/2021}: . World Wide Web URL: <https://omim.org/>

Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: {#612286}: {26/08/2021}: . World Wide Web URL: <https://omim.org/>

Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: {#176880}: {26/08/2021}: . World Wide Web URL: <https://omim.org/>

Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: {#188040}: {26/08/2021}: . World Wide Web URL: <https://omim.org/>

Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: {#613160}: {26/08/2021}: . World Wide Web URL: <https://omim.org/>

Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: {#173370}: {26/08/2021}: . World Wide Web URL: <https://omim.org/>

Orendáč, M., Zeman, J., Stabler, S., Allen, R., Kraus, J., & Bodamer, O. et al. (2003). Homocystinuria due to cystathionine β -synthase deficiency: Novel biochemical findings and treatment efficacy. *Journal Of Inherited Metabolic Disease*, 26(8), 761-773. doi: 10.1023/b:boli.0000009963.88420.c2

Outinen PA, Sood SK, Pfeifer SI, Pamidi S, Podor TJ, Li J et al. (1999). Homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress and growth arrest leads to specific changes in gene expression in human vascular endothelial cells. *Blood* 94: 959–967.

Pastore, A., Martinelli, D., Piemonte, F., Tozzi, G., Boenzi, S., Di Giovamberardino, G., Petrillo, S., Bertini, E., & Dionisi-Vici, C. (2014). Glutathione metabolism in cobalamin deficiency type C (cblC). *Journal of inherited metabolic disease*, 37(1), 125–129. <https://doi.org/10.1007/s10545-013-9605-3>

Robert, K., Maurin, N., Ledru, A., Delabar, J., & Janel, N. (2004). Hyperkeratosis in cystathionine beta synthase-deficient mice: an animal model of hyperhomocysteinemia. *The anatomical record. Part A, Discoveries in molecular, cellular, and evolutionary biology*, 280(2), 1072–1076. <https://doi.org/10.1002/ar.a.20082>

Sacharow SJ, Picker JD, Levy HL. (1993). Homocystinuria Caused by Cystathionine Beta-Synthase Deficiency. In: *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle, Seattle (WA); PMID: 20301697.

Schimke RN, McKusick VA, Huang T, Pollack AD (1965). Homocystinuria: Studies of 20 Families With 38 Affected Members, 193(9):711–719. doi:10.1001/jama.1965.03090090017003

Sen, U., Sathnur, P. B., Kundu, S., Givvimani, S., Coley, D. M., Mishra, P. K., Qipshidze, N., Tyagi, N., Metreveli, N., & Tyagi, S. C. (2012). Increased endogenous H₂S generation by CBS, CSE, and 3MST gene therapy improves ex vivo renovascular relaxation in hyperhomocysteinemia. *American journal of physiology. Cell physiology*, 303(1), C41–C51. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00398.2011>

Skovby, F., Gaustadnes, M., & Mudd, S. (2010). A revisit to the natural history of homocystinuria due to cystathionine β -synthase deficiency. *Molecular Genetics And Metabolism*, 99(1), 1-3. doi: 10.1016/j.ymgme.2009.09.009

Škovierová, H., Vidomanová, E., Mahmood, S., Sopková, J., Drgová, A., Červeňová, T., Halašová, E., & Lehotský, J. (2016). The Molecular and Cellular Effect of Homocysteine Metabolism Imbalance on Human Health. *International journal of molecular sciences*, 17(10), 1733. <https://doi.org/10.3390/ijms17101733>

Stabler, S. P., Korson, M., Jethva, R., Allen, R. H., Kraus, J. P., Spector, E. B., Wagner, C., & Mudd, S. H. (2013). Metabolic profiling of total homocysteine and related compounds in hyperhomocysteinemia: utility and limitations in diagnosing the cause of puzzling thrombophilia in a family. *JIMD reports*, 11, 149–163. https://doi.org/10.1007/8904_2013_235

Stabler, S. P., Lindenbaum, J., Savage, D. G., & Allen, R. H. (1993). Elevation of serum cystathionine levels in patients with cobalamin and folate deficiency. *Blood*, 81(12), 3404–3413.

Steven, S., Frenis, K., Oelze, M., Kalinovic, S., Kuntic, M., Bayo Jimenez, M. T., Vujacic-Mirski, K., Helmstädter, J., Kröller-Schön, S., Münzel, T., & Daiber, A. (2019). Vascular Inflammation and Oxidative Stress: Major Triggers for Cardiovascular Disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019, 7092151. <https://doi.org/10.1155/2019/7092151>

Stipanuk, M. (2020). Metabolism of Sulfur-Containing Amino Acids: How the Body Copes with Excess Methionine, Cysteine, and Sulfide. *The Journal Of Nutrition*, 150(Supplement_1), 2494S-2505S. doi: 10.1093/jn/nxaa094

Tyagi N, Sedoris KC, Steed M, Ovechkin AV, Moshal KS, Tyagi SC (2005). Mechanisms of homocysteine-induced oxidative stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 289: H2649–H2656.

Van der Put, N. M., van den Heuvel, L. P., Steegers-Theunissen, R. P., Trijbels, F. J., Eskes, T. K., Mariman, E. C., den Heyer, M., & Blom, H. J. (1996). Decreased methylene tetrahydrofolate reductase activity due to the 677C-->T mutation in families with spina bifida offspring. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)*, 74(11), 691–694. <https://doi.org/10.1007/s001090050073>

Van Hove, J., Freehauf, C. L., Ficicioglu, C., Pena, L., Moreau, K. L., Henthorn, T. K., Christians, U., Jiang, H., Cowan, T. M., Young, S. P., Hite, M., Friederich, M. W., Stabler, S. P., Spector, E. B., Kronquist, K. E., Thomas, J. A., Emmett, P., Harrington, M. J., Pyle, L., Creadon-Swindell, G., ... MacLean, K. N. (2019). Biomarkers of oxidative stress, inflammation, and vascular dysfunction in inherited cystathionine β -synthase deficient homocystinuria and the impact of taurine treatment in a phase 1/2 human clinical trial. *Journal of inherited metabolic disease*, 42(3), 424–437. <https://doi.org/10.1002/jimd.12085>

Venkatachalam K. V. (2003). Human 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate (PAPS) synthase: biochemistry, molecular biology and genetic deficiency. *IUBMB life*, 55(1), 1–11. <https://doi.org/10.1080/1521654031000072148>

Voskoboeva, E., Semyachkina, A., Yablonskaya, M., & Nikolaeva, E. (2018). Homocystinuria due to cystathionine beta-synthase (CBS) deficiency in Russia: Molecular and clinical characterization. *Molecular Genetics And Metabolism Reports*, 14, 47-54. doi: 10.1016/j.ymgmr.2017.11.001

Watanabe, M., Osada, J., Aratani, Y., Kluckman, K., Reddick, R., Malinow, M. R., & Maeda, N. (1995). Mice deficient in cystathionine beta-synthase: animal models for mild and severe homocyst(e)inemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(5), 1585–1589. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.5.1585>

Williams, K., & Schalinske, K. (2010). *Homocysteine metabolism and its relation to health and disease*. *Biofactors*, NA-NA. doi: 10.1002/biof.71

Winckers, K., ten Cate, H., & Hackeng, T. M. (2013). *The role of tissue factor pathway inhibitor in atherosclerosis and arterial thrombosis*. *Blood reviews*, 27(3), 119–132.
<https://doi.org/10.1016/j.blre.2013.03.001>

Wood, J. P., Ellery, P. E., Maroney, S. A., & Mast, A. E. (2014). *Biology of tissue factor pathway inhibitor*. *Blood*, 123(19), 2934–2943. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-11-512764>

Wu S, Gao X, Yang S, Meng M, Yang X, Ge B (2015). *The role of endoplasmic reticulum stress in endothelial dysfunction induced by homocysteine thiolactone*. *Fundam Clin Pharmacol* 29: 252–259.

Yap S. (2003). *Classical homocystinuria: vascular risk and its prevention*. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 26(2-3):259-265. DOI: 10.1023/a:1024497419821.

Anexo 1. Resultados discordantes respecto a los niveles de Cys

Defecto genético	Met	SAM	Hcy	Cys	Cysta	Otros metabolitos	Referencia y fuente
CBS	Elevada (>10x)	Elevada (5-10x)	Elevada (>10x)	Baja (0,5x)	Baja (<0,5x)		<i>Kožich & Stabler, 2020. Tabla 1.</i>
	Elevada	ND	Elevada	Baja	Baja		<i>Hoss et al., 2019. Tabla 2.</i>
MTHFR	Baja-normal	ND	Elevada	Baja	Elevada		<i>Hoss et al., 2019. Tabla 2.</i>
cbl defect	Baja-normal	ND	Elevada	Baja	Elevada	Ácido metilmalónico elevado	<i>Hoss et al., 2019. Tabla 2.</i>
RD (cbl+MTHFR)	Baja-normal	Baja-normal	Elevada (5-10x)	ND	ND	Ácido metilmalónico (>10x)	<i>Kožich & Stabler, 2020. Tabla 1.</i>

RD: Defectos de remetilación

Anexo 2. Niveles reportados de Hcy y Cys en pacientes homocistinúricos.

Condición (# pacientes)	Tratamiento	Met	SAM	Hcy	Cystat	Cys	Referencia (Fuente)
CBS (67)	SÍ	Elevada	ND	Elevada	ND	ND	De Biase et al., 2020 (Tabla 1) Stabler et al., 1993 (Tabla 3) Stabler et al., 2013 (Tabla 1) Stabler et al., 2013 (Tabla 4) Stabler et al., 2013 (Tabla 2) Hargreaves et al., 2002 (Tabla 2) Kožich et al., 2019 (Fig. 3 y 4) Lee & Briddon, 2007 (Tabla 1)
CBS (5)	Recibiendo B6	Elevada (4/5)	ND	Elevada	Baja (3/5)	Baja (4/5)	
CBS (2 hermanos)	1 sin B6 53 días	Elevada	Elevada	Elevada	Normal	Baja	
	1 sin B6 70 días	Normal	Elevada	Elevada	Normal	Normal	
CBS (118)	ND	Elevada	Elevada	Elevada	Baja	Baja	
(25)	NO	Elevada	Elevada	Elevada	Baja	Baja	
(93)	SÍ	Elevada	Elevada	Elevada	Baja	Baja	
CBS							
(11) B6-R	SÍ	ND	ND	Elevada	ND	Baja	
(20) B6-NR	SÍ	ND	ND	Elevada	ND	Baja	
CBS (10)	SÍ	ND	ND	Elevada	ND	Baja	Kožich et al., 2019 (Fig. 3 y 4) Lee & Briddon, 2007 (Tabla 1)
CBS (1)	SÍ	ND	ND	Elevada	ND	Baja	
cbl (2 hermanos)	NO	Baja (1/2)	ND	Elevada	ND	Baja (1/2)	Heil et al., 2007 (Tabla 1)
cbl (18)	SÍ	ND	ND	Elevada	ND	Baja	Pastore et al., 2014 (Tabla 1)
cbl (1)	NO	ND	ND	Elevada	ND	Baja	Lee & Briddon, 2007 (Tabla 1)
	SÍ	ND	ND	Elevada	ND	Normal	
cbl (21)	SÍ	Normal	ND	Elevada	Normal	ND	De Biase et al., 2020 (Tabla 1)
cbl (3)	ND	Baja (2/3)	ND	Elevada	Elevada	Baja (2/3)	Stabler et al., 1993 (Tabla 3)
cbl (2)	ND	Baja (1/2)	ND	Elevada	Elevada	Normal	Stabler et al., 1993 (Tabla 3)
MTHFR (1)	ND	ND	ND	Elevada	Normal	ND	Stabler et al., 1993 (Tabla 3)
MTHFR (17)	SÍ	Normales	ND	Elevada	Normal	ND	De Biase et al., 2020 (Tabla 1)
MTHFR (185)	ND	ND	ND	Elevada	ND	Baja	Van der Put et al., 1996 (Texto)
DR* (6)	SÍ	ND	ND	Elevada	Elevada	Baja	Kožich et al., 2019 (Fig. 3 y 4) Stabler et al., 2013 (Tabla 3)
DR*							
(8)	NO	Baja	Leve	Elevada	Elevada	Baja	
(36)	SÍ	Normal	Normal	Elevada	Elevada	Baja	
Deficiencias de cbl o THF (85)	NO	Normal	Normal	Elevada	Elevada	Baja	Stabler et al., 2013 (Tabla 3)
Deficiencia de cbl (1)	ND	ND	ND	Elevada	Elevada	ND	Stabler et al., 1993 (Tabla 1)
Deficiencia de THF (1)	ND	ND	ND	Elevada	Elevada	ND	Stabler et al., 1993 (Tabla 1)

DR*: Defectos de Remetilación. Incluyen defectos genéticos en cbl, MS, MSR y MTHFR --

B6-R: Respondedor a B6

B6-NR: No respondedor a B6

Anexo 3. Familias proteicas más afectadas.

Familia proteica	N.º de proteínas	Tamaño (Aa)	Media de %Cys	SD sobre la media**	Afectación relativa***	Función	Enfermedades
ZN (Proteína con dedos de Zn)	11	261-693	8'3	1'9-3'5	1'0-1'7	Factores de transcripción.	
TNR (Receptores de Factores de necrosis Tumoral)	8	241-423	8'5	1'9-3'0	1'0-1'5	Receptores de factores de necrosis tumoral.	Immunoglobulin A deficiency 2 (IGAD2) [MIM:609529]; Immunodeficiency 16 (IMD16) [MIM:615593]; Immunodeficiency with hyper-IgM 3 (HIGM3) [MIM:606843]; Immunodeficiency, common variable, 2 (CVID2) [MIM:240500]
Fibulinas	5	443-1184	9'1	2'3-3'1	1'1-1'6	Unión a fibronectina en matriz extracelular; Unión a EGFR; Formación de fibras elásticas.	Sinpolidactilia; Asociación con cancer de pecho; Doyne honeycomb retinal dystrophy (DHRD); Autosomal recessive cutis laxa: ARCL1B features include lethal pulmonary artery occlusion and arachnodactyly; Neuropathy, hereditary, with or without age-related macular degeneration (HNARMD) [MIM:608895].
Beta-defensinas	11	64-95	9'1	2'0-3'6	1'2-1'8	Actividad antimicrobiana y/o bactericida.	
WFD (Proteínas WAP con dominios disulfuro)	6	93-231	10'6	2'4-4'7	1'2-2'4	Inhibidores de proteasas.	
CCN (Red de comunicación celular)	5	250-381	10'9	3'0-3'6	1'5-1'8	Proliferación celular, quimiotaxis, angiogénesis y adhesión celular.	
LCE (Precursores del estrato córneo)	17	89-118	18'9	4'7-7'7	2'3-3'8	Precursores del estrato corneo de la piel.	
KRTAPs (Proteínas asociadas a queratinas)	53	52-401	25	2'1-13'7	1'0-6'8	Componentes esenciales de la corteza capilar.	
Metalotioneínas	10	61-68	32'6	10'7-12'7	5,4-6'3	Estas proteínas realizan importantes funciones en la regulación celular redox, la señalización del óxido nítrico y en el almacenamiento de iones metálicos.	
SCGR (KRTAPs ricas en C y G)	10	47-120	37'4	10'0-15'4	5'0-7'7	Componentes esenciales de la corteza capilar.	

Anexo 4. Cascada de coagulación.

Nombre de las Proteínas	%Cys	Normalización	Grado de afectación relativo	Función	Enfermedad
Trombomodulina	8,522	2,4253	1,2118	Forma un complejo con la trombina responsable de la conversión de la proteína C a proteína C activada.	Trombofilia y Síndrome Hemolítico Urémico.
Factor XII de Coagulación	6,504	1,6246	0,8117	Participa en el inicio de la coagulación.	Anomalía asintomática de la coagulación sanguínea in vitro.
Factor de coagulación XIII Cadena B	6,051	1,4450	0,7220	Regula la tasa de formación de transglutaminasa mediante trombina.	Trastorno caracterizado por una tendencia a sangrar de por vida, una cicatrización deficiente de las heridas y un aborto espontáneo en las mujeres afectadas.
Factor XI de Coagulación	5,760	1,3294	0,6642	Activa el Factor IX.	Enfermedad hemorrágica caracterizada por síntomas de hemorragia moderados, que generalmente ocurren después de un traumatismo o cirugía.
Factor VII de Coagulación	5,579	1,2577	0,6284	Inicia la vía extrínseca de la coagulación sanguínea.	Enfermedad hemorrágica de presentación variable.
Proteína S vitamina K-dependiente	5,325	1,1569	0,5781	Ayuda a prevenir la coagulación y estimula la fibrinólisis.	Trombofilia.
Factor XIV de Coagulación	5,206	1,1096	0,5544	Regula la coagulación sanguínea inactivando los factores Va y VIIIa en presencia de iones de calcio y fosfolípidos.	Trombofilia.
Factor IX de Coagulación	5,206	1,1096	0,5544	Participa en la vía intrínseca de la coagulación sanguínea al convertir el factor X en su forma activa.	Hemofilia.
Factor X de Coagulación	4,918	0,9953	0,4973	Convierte la protrombina en trombina en presencia de factor Va, durante la coagulación sanguínea.	Enfermedad hemorrágica de presentación variable.
Protrombina (Factor II de Coagulación)	4,180	0,7024	0,3510	La trombina convierte el fibrinógeno en fibrina y activa los factores V, VII, VIII, XIII y, en conjunto con la trombomodulina, la proteína C	Deficiencia extremadamente rara que resulta en bajos niveles plasmáticos de protrombina.
Fibrinógeno cadena beta	2,444	0,0135	0,0067	Junto con el fibrinógeno alfa (FGA) y el fibrinógeno gamma (FGG), se polimerizan para formar una matriz de fibrina insoluble.	Afibrinogenemia congénita.
Fibrinógeno cadena gamma	2,428	0,0072	0,0036	Junto con el fibrinógeno alfa (FGA) y el fibrinógeno beta (FGB), se polimeriza para formar una matriz de fibrina insoluble.	Afibrinogenemia congénita.
Factor Tisular (TF)	1,695	-0,2838	-0,1418	Inicia la coagulación sanguínea formando un complejo con el factor VII o VIIIa circulante.	
Fibrinógeno cadena alfa	1,501	-0,3607	-0,1802	Junto con el fibrinógeno beta (FGB) y el fibrinógeno gamma (FGG), se polimerizan para formar una matriz de fibrina insoluble.	Afibrinogenemia congénita.
Factor XIIIa de Coagulación	1,230	-0,4684	-0,2341	Estabiliza el coágulo de fibrina.	Trastorno caracterizado por una tendencia a sangrar de por vida, una cicatrización deficiente de las heridas y un aborto espontáneo en las mujeres afectadas.
Factor VIII de Coagulación	1,106	-0,5175	-0,2586	Actúa como cofactor del factor IXa cuando convierte factor X en la forma activada, factor Xa.	Hemofilia.
Factor V de Coagulación	0,899	-0,5995	-0,2995	Sirve como cofactor del factor Xa que resulta en la activación de protrombina a trombina.	Parahemofilia.
Receptor de proteína C endotelial	2,521	0,0441	0,0220	Se une a la proteína C activada. Mejora la activación de la proteína C mediante el complejo trombina-trombomodulina	